Aus der Nuklearmedizinischen Abteilung der Medizinischen
Kliniken der Freien Universität Berlin im Städtischen
Krankenhaus Westend
Leiter: Professor Dr. med. Karl Oeff

Eiweißumsatzuntersuchungen bei einem Plasmazelltumor der Maus mit Hilfe von Se ^{75}-Selenomethionin

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Walter Vollnberg
aus Troppau

1969

Aus der Nuklearmedizinischen Abteilung der Medizinischen
Kliniken der Freien Universität Berlin im Städtischen
Krankenhaus Westend
Leiter: Professor Dr. med. Karl Oeff

Eiweißumsatzuntersuchungen bei einem Plasmazelltumor der Maus mit Hilfe von Se ^{75}-Selenomethionin

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Walter Vollnberg
aus Troppau

Dekan: Professor Dr. med. Hans Heinz Naumann

Referent: Professor Dr. med. Karl Oeff

Korreferent: Professor Dr. med. H. Brücher

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 12. 6. 1969

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung

B. Übersicht über die bisherigen Untersuchungen an Plasmazelltumoren der Mäuse

C. Ziel der vorliegenden Untersuchung

D. Material und Methoden

E. Ergebnisse

1.) Tumorwachstum und Körpergewicht

2.) Selenomethinoninumsatz im gesamten Tier

3.) Szintigraphische Untersuchungen der Selenomethioninverteilung

4.) Selenomethionineinbau in die verschiedenen Organe

5.) Elektrophoretische Bestimmung der Serum- und Aszitesеiweißfraktionen

6.) Umsatz der mit Selenomethionin markierten Proteinfraktionen

7.) In vitro Untersuchungen an Tumorzellen

F. Diskussion der Ergebnisse

G. Zusammenfassung

H. Anhang (Rechenbeispiele und Tabellen)

I. Literatur

A Einleitung

In der nuklearmedizinischen Diagnostik werden in zunehmendem Maße Stoffwechselprozesse von Organen untersucht. Stoffwechselveränderungen können sich dabei auf zweierlei Arten manifestieren:

1. durch spezifische Anreicherung, z. B. von Jod in der Schilddrüse,
2. durch Aussparung, z. B. bei "stummen" Tumoren.

Neuerdings werden in einigen Fällen auch Tumorgewebe mit hohem Eiweißumsatz der nuklearmedizinischen Diagnostik zugänglich gemacht, und so konnte z. B. OEFF das Plasmozytom des Menschen mit Se^{75}-Methionin szintigraphisch nachweisen.

Nachdem beim Plasmozytom des Menschen die Anreicherung von einer radioaktiven Aminosäure gezeigt worden war, soll in der vorliegenden Arbeit die Eiweißkinetik eines Plasmozytoms quantitativ untersucht werden. Es wurde auf einen experimentellen Tumor zurückgegriffen, um gleichzeitig den Stoffwechsel von Tumor-, Serum- und Organeiweiß beobachten zu können. Die Untersuchungen wurden mit $Selen^{75}$-Methionin am PC-5 und LPC-1 Plasmozytom der Balb/c - Mäuse durchgeführt.

B Übersicht über die bisherigen Untersuchungen an Plasmazelltumoren der Mäuse

Zum ersten Mal beschrieben RASK-NIELSEN und GORMSEN 1951 einen Plasmazelltumor bei Mäusen. Inzwischen sind mehrere solcher Tumore beschrieben worden (BICHEL, DALTON, DUNN, POTTER).

Einige Mäusestämme sind ausgesprochene Plasmozytomträger, doch bei experimentellen Untersuchungen werden vor allem die übertragbaren Tumore der Balb/c - Mäuse verwendet.
Teils entstehen diese Plasmozytome spontan, doch durch entsprechende

Reizungen gelingt es mitunter auch, sie zu induzieren, z. B. durch intraperitoneale Gaben von Mineralölen (HERRMANN, POTTER 1964), durch Injektionen von Gewebsextrakten oder durch eine rein mechanische Reizung des Peritoneums (MERWIN, MOURIQUAND).
Die Plasmozytome der Mäuse verursachen ähnliche Veränderungen wie sie beim Plasmozytom des Menschen beobachtet werden z. B.:

1. Bence - Jones - Eiweißkörper im Urin (MC INTIRE, FAHEY 1959, ASKONAS)
2. Nierenveränderungen (MC INTIRE, COLEMAN)
3. Knochenveränderungen (KOBAYASHI, POTTER 1957)
4. Vorkommen der Paraproteine im Serum, wie sie in fast allen genannten Arbeiten erwähnt werden.

Wie beim Menschen lassen sich auch beim Plasmozytom der Mäuse serologisch die Alpha-. Beta- und Gammaglobulintypen unterscheiden. Eingehende Untersuchungen über die Beziehung der Morphologie des Tumors zu seinem serologischen Typ wurden vorgenommen. Es konnten aber keine Zusammenhänge gefunden werden (MC INTIRE, BRECHER).

Für die Prüfung der Wirksamkeit von zytostatischen Medikamenten erwiesen sich die Plasmozytome der Mäuse als brauchbare Modelle. Als Parameter für den Erfolg einer Therapie dienen z. B. die Veränderungen des Tumordurchmessers, die Überlebenszeit der Tiere oder die Veränderungen in den Globulinfraktionen des Serums (BERGSAGEL, HAYES, KORST, ROSENOER, YANCEY).

Eine Reihe von immunoelektrophoretischen Arbeiten beschäftigen sich mit den Antigeneigenschaften der Paraproteine. Ihr Aufbau aus definierten Teilproteinen konnte dargestellt werden. In diesem Zusammenhang wurde auch der Frage nachgegangen, ob die Paraproteine eine erhöhte Menge von normalerweise vorkommenden Proteinen darstellen, oder ob sie abnorme Eiweißkörper sind (HERRMANN, FAHEY 1961, 1963, 1964, OSSERMANN).

Über die Genese der bösartigen Entartung der Plasmazellen ist kaum etwas bekannt. Einige Autoren konnten virusähnliche Gebilde in den Zellen nachweisen (HERRMANN, HOWATSON, DALTON). Das Entstehen der Paraproteine in den Tumorzellen selbst wurde erwiesen (RIFKIND, TRUAX, VAN FURTH).

MOHR führte auch Untersuchungen an einem Plasmozytom des Goldhamsters durch.

C. Ziel der vorliegenden Arbeit

Es soll die Eiweißkinetik in Plasmozytommäusen ermittelt werden. Um einen genauen Einblick zu erhalten, wurden folgende Untersuchungen geplant:

1. Bestimmungen der Gewichtszunahme des Tumors und der Gewichtsveränderungen anderer Organe
2. Bestimmung des Selenomethioninumsatzes im gesamten Tier und Errechnung der biologischen Halbwertzeit.
3. Messung der Selenomethioninverteilung in den einzelnen Organen
4. Trennung von freiem und eingebautem Selenomethionin.
5. Bestimmung der Serum- und Aszitеseiweißfraktionen.
6. Untersuchung des Selenomethionineinbaus in die Serumeiweißfraktionen.
7. In vitro Untersuchungen an Tumorzellen, um die Synthese von Proteinen zu erweisen.

D. Material und Methoden

Mäuse:

Es wurden Balb/c - Mäuse aus dem Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine/USA) verwandt und durch Bruder - Schwester - Paarung vermehrt.

Tumor:

Die Plasmazelltumore PC-5 (Linie I, Generation 91 - F - 11) und LPC-1 (Linie I, Generation 56 F_3) wurden von Ira Kline, Ph. D., Microbiological Associates, Washington, zur Verfügung gestellt[+]. Der Tumor wurde entweder in kleingeschnittenem Zustand subcutan mit einer Kanüle 2 übertragen oder man benutzte beim Transplantieren die Ascitesform des Tumors, die sich beim intraperitonealen Wachstum des Tumors ausbildet.

Elektrophorese:

Das Blut wurde durch Zentrifugieren von den zelligen Bestandteilen und von dem Fibrin befreit und das Serum papierelektrophoretisch in der Durrum-Kammer auf Schleicher-Schüll-Papier Nr. 2043b aufgetrennt; bei einem pH von 8, 6 in einem Veronal/Veronalnatrium-Puffer von der Ionenstärke $\frac{tau}{2} = 0,06$ mit einer Laufzeit von 7 Stunden bei 5 Volt/cm (WUNDERLY). Die Elektrophoresestreifen wurden mit Bromphenolblau gefärbt und die prozentualen Anteile der Eiweißfraktionen photometrisch mit dem Zeiss-Elphor gemessen. Die absolute Eiweißmenge wurde mit der Biuret-Methode bestimmt.

Elektrophoresestreifen mit aktiven Seren, die noch freies Selenomethionin enthielten, wurden vor dem Färben einzeln in einer frischen Methanol-Eisessiglösung (9 : 1) 10 min gespült, um das freie Selenomethionin auszuwaschen und das Eiweiß mit dem festeingebauten Selenomethionin an das Elektrophoresepapier zu binden. Freies Selenomethionin hat bei der Elektrophorese die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit wie die Betaglobuline und würde bei diesen, wenn es nicht ausgewaschen wird, irrtümlich hohe Aktivitätswerte vortäuschen. - Falls das Serum vor dem Auftragen auf das Elektrophoresepapier von freiem Selenomethionin befreit werden sollte, wurde es bei $4^{\circ}C$ gegen eine 1/6 molare NaCl-Lösung dialysiert.

+ Für diese großzügige Unterstützung soll an dieser Stelle herzlich gedankt werden.

l-Selen^{75}-Methionin:

Selen^{75}-Methionin wurde aus Amersham, England, bezogen, wobei in den einzelnen Chargen die spezifische Aktivität zwischen 320 und 1200 microCi/mg Selenomethionin schwankte. Erhielt z. B. eine Maus 5 microCi , so entsprach das einer Selenomethioninmenge von 4 - 15 Gamma.

Organuntersuchungen:

Bei den Untersuchungen des Selenomethionineinbaus in die verschiedenen Organe erhielten die Mäuse etwa 1 microCi pro 5 g Mausgewicht intravenös in die Schwanzvene. Nach der Selenomethioningabe wurden die Mäuse zum jeweiligen Zeitpunkt in Äthernarkose entblutet und anschließend die Organe vom linken Herzen her mit physiologischer Kochsalzlösung möglichst blutarm gespült. Um die Meßergebnisse bei den einzelnen Mäusen vergleichen zu können, wurde unter Umständen ein Korrekturfaktor berücksichtigt, wie er im Anhang auf Seite 50 näher beschrieben wird.

Meßmethodik:

Die intensive Gamma-Strahlung des Selenomethionins ist mit Szintillationszählgeräten gut meßbar. Das Energiespektrum der Strahlung liegt zwischen 0, 1 und 0, 4 MeV. Eine Berücksichtigung des radioaktiven Zerfalls war in den meisten Fällen nicht nötig, da Selen^{75} eine Halbwertzeit von 120 Tagen hat. Nur bei Meßvorgängen über mehrere Tage wurden die Werte korrigiert.

Die Elektrophoresestreifen wurden in 0, 5 cm breite Teilstreifen zerschnitten, um in dieser Unterteilung die Aktivitätsmengen in den Eiweißfraktionen zu bestimmen. Auf das ganze Proteinband kamen ungefähr 20 Teilstreifen.

Szintigraphie:

Bei der szintigraphischen Untersuchung kam ein Magnascanner der Firma Picker in Anwendung. Das Gerät tastet sich in sehr kleinen Abständen über die - vorher narkotisierte - Maus und druckt die jeweils gemessene Aktivität durch verschieden dicht stehende Farbstriche aus. Die mit 7 Farben ausgedruckten Aktivitätsintensitäten können hier nur schwarzweiß wiedergegeben werden.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung von Meßergebnissen wurde mit Hilfe der wissenschaftlichen Tabellen von DOCUMENTA GEIGY durchgeführt. Die Streuung ($= s^2$) wurde aus der Summe der Abweichungsquadrate - geteilt durch die Freiheitsgrade - errechnet. Der 2-Stichproben-t-Test diente zur Prüfung auf Gleichheit von Mittelwerten bei den Meßergebnissen von gesunden und kranken Tieren.

$$t = \frac{\left| \bar{X}_G - \bar{X}_K \right| \cdot \left(\frac{N_G \cdot N_K}{N_G + N_K} \right)^{\frac{1}{2}}}{\left(\frac{(N_G - 1)\, s_G^2 + (N_K - 1)\, s_K^2}{N_G + N_K - 2} \right)^{\frac{1}{2}}}$$

N_G; N_K = Umfang der Stichprobe bei gesunden und kranken Tieren

$\bar{X}_G$; $\bar{X}_K$ = Mittelwert der jeweiligen Stichprobe

Die Voraussetzung des t-Testes, die Gleichheit der Streuungen in der Grundgesamtheit wurde mit Hilfe des F - Testes geprüft.

Inkubationsmethodik:

In der Ausführung können verschiedene Wege eingeschlagen werden. Entweder man inkubiert für kurze Zeit den Aszites mit den Zellen direkt und gibt nur etwas Selenomethionin bei oder man fügt noch ein Nährsubstrat hinzu. Bei dem 2. Weg, der in dieser Arbeit durchgeführt wurde, diente als Puffer- und Nährsubstrat eine Mischung von 90 ml Ringer,

30 ml isotonem Phosphatpuffer (7,4 pH) und 5 ml isotoner Glucoselösung (5,5 %). Es wurde jeweils so viel Nährlösung hinzugegeben bis eine Zellkonzentration von 20 mg/ml erreicht war. Problematisch erwies sich das sonst übliche Hinzufügen von Aminosäurehydrolysaten zur Unterstützung der Eiweißsynthese. Mit einer solchen Gabe wäre in dem Inkubationsmilieu das 10 - bis 20-fache an inaktivem Methionin, als man an aktivem Methionin hinzugeben würde. Ein stark verminderter Einbau des Selenomethionins wäre die Folge. Um dieses zu vermeiden, kam ein isotones Aminosäuregemisch in Anwendung, das frei von Methionin war. Es wurde in folgender Zusammensetzung bereitet (in Anlehnung an Ernährungswerte des Biochemischen Taschenbuches von RAUEN; Band 2, Seite 273).

l-Lysin 1,0; l-Tryptophan 0,2; l-Histidin 0,4;
l-Phenylalanin 0,5; l-Leucin 0,8; l-Isoleucin 0,5;
l-Threonin 0,5; l-Valin 0,7; l-ArgininHCl 0,3 ad 150 H_2O bidest.

Von dieser Lösung wurden zur vorhergenannten Nährlösung 5 ml hinzugegeben. Die Inkubation wurde bei 37 Grad im Warburg-Apparat ausgeführt. Grundsätzlich dauerte sie nicht länger als 3 Stunden, um eine Säuerung des Ansatzes durch entstehende Milchsäure zu vermeiden.

Trennung von freiem und eiweißgebundenem Selenomethionin

Durch einen Ultraturrax (20ooo Upm) wurden Organteile nach Messung ihrer Aktivität homogenisiert. In diesem Homogenat wurde das Eiweiß durch Zugabe einer gleichen Menge einer 20 %igen Trichloressigsäure gefällt. Nach einem Zentrifugieren von 10 Minuten wurde der Überstand mit dem freien Selenomethionin verworfen und der Bodensatz jeweils noch zweimal mit 10 %iger Trichloressigsäure nachgespült und abzentrifugiert. Die Aktivität im endgültig erhaltenen Bodensatz wurde bestimmt und sie entsprach - in % der Ausgangsaktivität angegeben - dem Anteil des in den Organzellen eiweißgebundenen Selenomethionins.

Untersuchung des Urins auf Bence-Jones-Eiweißkörper

Nachdem der Harn mit 10 % Essigsäure leicht angesäuert worden war, wurde diese Untersuchung mit der Kochprobe durchgeführt.

E. Ergebnisse

1. Tumorwachstum und Körpergewicht

Der PC-5 Tumor

Der subcutan transplantierte PC-5 Tumor bildet am Ort der Injektion eine große zusammenhängende weißliche Masse, die mit der Haut verwächst und sie nach einiger Zeit perforiert. Die Lymphknoten in seiner Nachbarschaft sind teilweise vergrößert. Der Tumor tötet die Tiere im Durchschnitt nach 22 Tagen (17 -30 Tage). Die Streuung der Überlebenszeit resultiert zum Teil aus der nicht immer ganz gleich zu haltenden Tumormenge, die transplantiert wird. Wächst der Tumor intraperitoneal, sterben die Tiere nach rund 15 Tagen. Beim intraperitonealen Wachstum entsteht eine Aszitesform; in 2 - 4 ml Aszites befinden sich freie Plasmazellen ohne jeden geweblichen Kontakt in einer Konzentration von 20 - 60 mg Zellen in einem Milliliter Aszites.

Der LPC-1 Tumor

Der LPC-1 Tumor hat ein traubiges, stark blutreiches Aussehen. Wächst er subcutan, tötet er die Tiere etwa um den 30. Tag, also eine Woche später als der PC-5 Tumor. Intraperitoneal transplantiert, bilden sich längst des Darmes ebenfalls traubige kirschkerngroße, blutreiche Knoten. Es tritt ein stark blutiger Aszites auf, der im Zellenausstrich keine freien Tumorzellen, aber große Mengen an roten Blutkörperchen (etwa 60 mg/ml) aufweist. Die Erythrozyten liegen in verschiedenen Zerfallstadien vor, so daß beim Abzentrifugieren eine Schichtung des Bodensatzes auftritt.

Inokuliert man Balb/c - Mäusen einen solchen Plasmazelltumor, so nehmen diese Tiere stark an Gewicht zu. Den Verlauf einer solchen Gewichtszunahme nach einer subcutanan Inokulation von ungefähr 50 mg PC-5 Tumorzellen zeigt Abbildung 1.

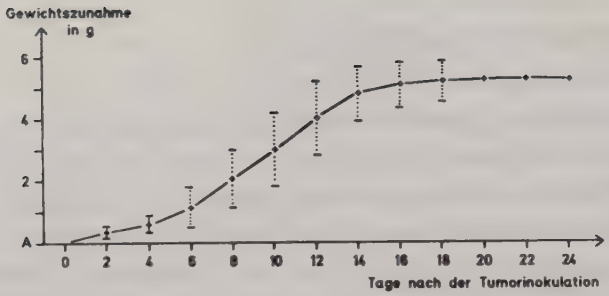


Abb. 1
Gewichtszunahme von PC-5 Tumormäusen, denen der Tumor subcutan inokuliert wurde. Durchschnittswerte und Standardabweichung von 16 Mäusen. Nach 18 Tagen ist die Standardabweichung nicht mehr angegeben, weil ein Teil der Mäuse stirbt. (A=Gewicht der Mäuse vor der Inokulation, im Durchschnitt 24 Gramm)

Man kann in der Darstellung der Gewichtszunahme drei Phasen unterscheiden. In den ersten beiden Wochen erkennt man einen starken Anstieg des Körpergewichtes, der durch die Proliferation des Tumors bedingt ist, danach folgt in der dritten Woche eine statische Phase. Bei den Tieren, die diese Zeit überleben, zeigt sich eine geringe Gewichtsabnahme.

Vergleicht man die Organgewichte von PC-5 Tumormäusen mit den Organgewichten von gesunden Tieren, so erhalten wir die Werte der Tabelle 1. Da der Tumor wenig metastasiert und subcutan einen pflaumengroßen Knoten bildet, ist er leicht zu enukliieren. Er wog im Durchschnitt 3 g mehr als der Gewichtszunahme der Maus entspricht. Vornehmlich der Restkörper der Maus verliert bei einem Tumortier an Gewicht; eine Gewichtsabnahme findet sich ebenso bei der Niere, beim Pankreas, beim Darm, bei den Hoden, beim Herzen, beim Hirn und bei der Schilddrüse. Bei diesen Gewichtsabnahmen, die auch durch den t-Test mit einer Signifikanzwahrscheinlichkeit von 95 % gesichert werden konnten, handelt es

sich zum Teil um einen reinen Fettschwund der Organe. Die Veränderungen der Niere sind jedoch spezifischer Art, wie es COLEMAN darstellt. Eine Gewichtszunahme zeigt vorallem die Milz, deren Gewicht verfünffacht ist. Diese Gewichtszunahme soll durch eine Zunahme des lymphatischen Gewebes bedingt sein, wie DUNN beschreibt. Der Wert der Standardabweichung bei der Milz von Tumortieren ist ebenfalls stark erhöht; dies erklärt sich dadurch, daß außer der normalen biologischen Schwankung auch der jeweilige Krankheitsgrad die Einzelwerte variieren läßt.

Tabelle 1

Organgewichte von gesunden Mäusen und von PC-5 Tumortieren. Mittelwerte ± Standardabweichungen von je 12 Tieren:

	Werte gesunder Tiere		Werte von Tumormäusen	
Darm	3,00	± 0,38	2,40	± 0,27
Leber	1,49	± 0,30	1,63	± 0,45
Niere	0,41	± 0,04	0,32	± 0,09
Pankreas	0,16	± 0,02	0,09	± 0,03
Milz	0,08	± 0,002	0,39	± 0,12
Magen	0,47	± 0,11	0,41	± 0,10
Hoden	0,24	± 0,02	0,20	± 0,03
Herz	0,11	± 0,008	0,09	± 0,002
Lunge	0,15	± 0,02	0,18	± 0,04
Thymus	0,05	± 0,01	0,05	± 0,01
Schilddrüse	0,13	± 0,01	0,09	± 0,01
Hirn	0,45	± 0,02	0,42	± 0,02
Tumor			8,1	± 1,4
Rest des Tieres	13,5	± 1,1	10,4	± 0,6
Fell	3,1	± 0,3	3,4	± 0,4
Blut, ungefähr	1,0		1,0	
Mausgewicht	24,3	± 1,9	29,2	± 2,5

2. Selenomethioninumsatz im gesamten Tier

Der Abfall der Ganzkörperaktivität nach intravenöser Applikation von 5 microCi pro Maus weist bei Tumormäusen und bei gesunden Tieren charakteristische Veränderungen auf. Abbildung 2 zeigt die Kurvenverläufe, deren Werte aus Dreifachbestimmungen resultieren.

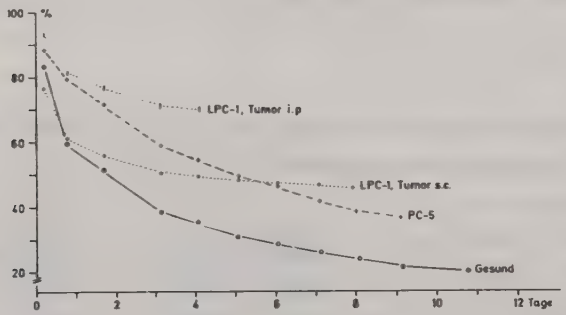


Abb. 2
Abfall der Ganzkörperaktivität bei gesunden Tieren und bei Tumormäusen (Gegebene Anfangsaktivität gleich 100 %).

Der verlangsamte Aktivitätsabfall bei Tumormäusen verdeutlicht den starken Aminosäurebedarf dieser Tiere. Sehr wenig Selenomethionin wird von Tieren ausgeschieden, die den Tumor intraperitoneal tragen und einen Ascites aufweisen.

Der Aktivitätsverlust ist vorwiegend durch die Ausscheidung über die Nieren bedingt. In den ersten beiden Tagen, in denen Kot und Urin getrennt gemessen wurde, erfolgte über 90 % der Aktivitätsausscheidung durch den Urin und der Rest über den Kot.

Zur Darstellung der biologischen Halbwertzeit des Selenomethionins wurden die Werte der Abbildung 2 in einem halblogarithmischen Koordinatensystem wiedergegeben.

Abbildung 3 zeigt das Ergebnis.

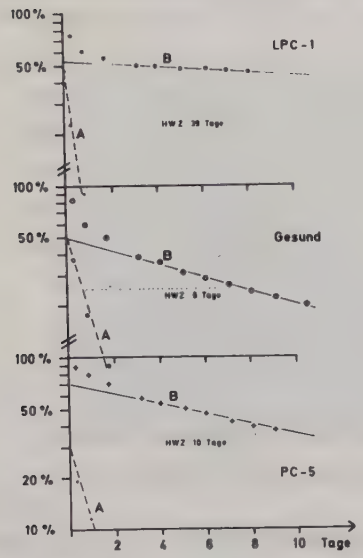


Abb. 3
Halblogarithmische Darstellung des Aktivitätsabfalls bei Ganzkörpermessung in den einzelnen Tiergruppen.
(HWZ = Halbwertzeit)

In der Zeit direkt nach der Selenomethioningabe verlieren die Tiere beschleunigt Aktivität, und etwa erst vom 4. Tage ab lassen sich in Abbildung 3 die gemessenen Werte durch eine Gerade verbinden. Anfangs sind zwei Prozesse am Aktivitätsabfall beteiligt, und diese sind je durch eine e-Funktion darzustellen. Der erste Prozeß ist die Ausscheidung des freien, noch nicht eingebauten Selenomethionins in den ersten Stunden nach Gabe der Aktivität und er wird durch die Funktion $y = A \times e^{-K_1 t}$ beschrieben (im halblogarithmischen Koordinatensystem der Abbildung 3 ist es die Gerade A). Der zweite Prozeß beim Aktivitätsabfall ist durch den eigentlichen Eiweißumsatz gegeben und folgt der Funktion $z = B \times e^{-K_2 t}$ (in Abbildung 3 ist es die Gerade B).
Die Werte der ersten Funktion $y = A \times e^{-K_1 t}$ ergeben sich in Abbildung 3 aus den gemessenen Werten, nachdem von ihnen die entsprechenden Werte der Geraden $z = B \times e^{-K_2 t}$ subtrahiert wurden.

Aber nicht nur zeichnerisch lassen sich die beiden Funktionen ermitteln, sondern auch rechnerisch. Die Werte, die etwa vom 4. Tage an gemessen wurden, entsprechen der Funktion $z = B \times e^{-K_2 t}$. Die Bedingung ist, daß die gemessenen Werte möglichst einen geringen Abstand von dem Kurvenverlauf der genannten Funktion haben sollen, und das ist erreicht, wenn die Summe der Abstandsquadrate der einzelnen Werte ein Minimum ist. Die Funktion ist umgeformt $\ln z = \ln B + K_2 t$. Die gemessenen Werte seien z'. Der Abstand der Werte von der Kurve ist somit $\ln z' - \ln z$. Die Summe aller Abstandsquadrate ist: $(\ln z' - \ln B - K_2 t)^2$. Ein Minimum liegt vor, wenn die 1. Ableitung Null ist. Je nachdem, ob man K_2 oder B als Veränderliche nimmt und danach ableitet, läßt sich K_2 oder B errechnen.

Nachdem B und K_2 und entsprechend auch A und K_1 bestimmt worden waren, ließen sich als Halbwertzeiten folgende Werte ermitteln:

für die Halbwertzeiten des freien Selenomethionins

bei gesunden Tieren	15 Std.
bei PC-5 Tumormäusen	18 Std.
bei LPC-1 Tumormäusen	11 Std.

für die Halbwertzeit des eingebauten Selenomethionins

bei gesunden Tieren	7 Tage 22 Std.
bei PC-5 Tumormäusen	10 Tage 17 Std.
bei LPC-1 Tumormäusen	39 Tage

Bei Tieren, die den Tumor in der Aszitesform trugen, ist eine Halbwertzeit nicht angebbar, da diese Tiere nach voll ausgebildetem Tumor nur wenige Tage überleben und so der Selenomethioninabfall nicht genügend lange verfolgt werden konnte.

3. Scintigraphische Untersuchungen der Selenomethioninverteilung

Nach oraler Gabe von 5 microCi Selenomethionin mit einer Schlundsonde wurden von PC-5 Tumormäusen Serien von scintigraphischen Bildern

angefertigt. Beispiele der sich ständig ändernden Aktivitätsverteilung zeigen die vier folgenden Bilder.

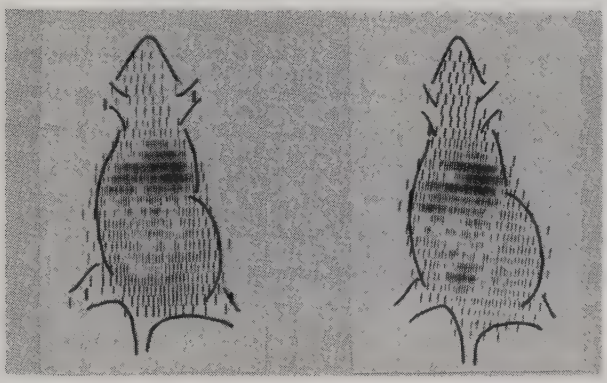


Bild A Bild B

Bild A

Nach einer Stunde zeigt der Oberbauch - Leber, Pankreas, Milz - eine sehr hohe Aktivität (im ursprünglichen Bild sind es dunkelrote Striche). Im Unterbauch - Darm - befindet sich eine mittlere Aktivität, die durch die schwach gedruckten Striche dargestellt wird (im Originalbild sind es gelbe Striche). Der restliche Körper der Maus ist in den Umrissen erkennbar, und seine geringere Aktivität wird durch die Striche mit weiterem Abstand wiedergegeben (im Original sind es blaue Striche).

Bild B

Nach zwei Stunden treten die Nierenbereiche deutlicher hervor, und die Blase beginnt sich zu markieren ("pulsierende" Aktivität je nach Füllung der Blase). Das Tumorgebiet zeigt eine mittlere Aktivität, im Bild durch schwach gedruckte Striche dargestellt.

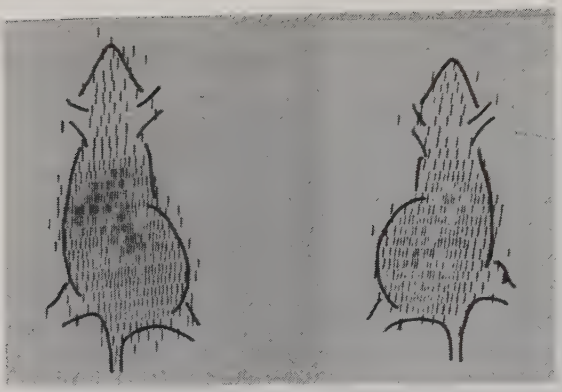


Bild C Bild D

Bild C

Nach 24 Stunden ist die Aktivität der großen Stoffwechselorgane des Oberbauches schon geringer und sie treten weniger stark hervor.

Bild D

Nach 2 Tagen ist der Tumor deutlich markiert (im Original einige rote Striche). Eine mittlere Aktivität, die durch die schwach gedruckten Striche wiedergegeben ist, befindet sich noch im Leber- und Darmbereich. Der übrige Körper ist durch weit stehende Striche dargestellt (im Original blau), die eine geringere Aktivität anzeigen.

4. Selenomethioninaufnahme in die verschiedenen Organe

Da die szintigraphischen Untersuchungen keine exakten Aussagen über die spezifischen Aktivitäten von einzelnen Organen zulassen, wurde die Selenomethioninverteilung in den Mäusen genauer untersucht.
Zu verschiedenen Zeiten nach der intravenösen Gabe von 1 microCi Selenomethionin pro 5 g Mausgewicht wurden die Organe von Tumormäusen und gesunden Tieren gewogen und ihre jeweilige Aktivität gemessen. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe gibt Tabelle 2 wieder. Die Angaben

sind Mittelwerte von Zweifachbestimmungen, also zu jedem Zeitpunkt wurden aus den genannten Tiergruppen je zwei Mäuse getötet. Die Werte der Tabelle geben die Aktivität in microCi an, die in einem Gramm Gewebe des betreffenden Organs enthalten ist. Es ist also eine Angabe der spezifischen Aktivität. Die Werte zeigen, wie schnell und wie stark das betreffende Organ Selenomethionin aufnimmt. Die Werte der gesunden Tiere entsprechen etwa den Beobachtungen, die auch von HANSSON und von ANGHILERI angegeben werden.

Tabelle 2

Aktivitätsanreicherungen zu verschiedenen Zeiten in den Organen von Tumormäusen und von gesunden Tieren. Angaben in microCi/g Organgewebe. Die Werte der gesunden Tiere stehen unter den Werten der Tumormäuse. (Gegeben wurde 1 microCi Selenomethionin pro 5 g Mausgewicht.)

Werte nach:	5 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	6 Stunden
PC-5 Tumor	0, 140	0, 170	0, 230	0, 250
Darm	0, 280	0, 280	0, 310	0, 320
		0, 310	0, 400	0, 380
Leber	0, 420	0, 620	0, 610	0, 510
		0, 620	0, 570	0, 480
Niere	0, 290	0, 400	0, 680	0, 970
		0, 600	0, 660	0, 780
Pankreas	0, 750	0, 730	1, 200	0, 450
		2, 400	2, 520	0, 630
Milz	0, 270	0, 270	0, 420	0, 420
		0, 230	0, 260	0, 260
Magen	0, 260	0, 260	0, 250	0, 350
		0, 250	0, 210	0, 200
Hoden	0, 100	0, 100	0, 110	0, 110
		0, 095	0, 100	0, 110
Herz	0, 270	0, 180	0, 120	0, 120
		0, 260	0, 160	0, 170
Lunge	0, 380	0, 280	0, 220	0, 280
		0, 230	0, 200	0, 210
Thymus	0, 220	0, 200	0, 130	0, 210
		0, 220	0, 170	0, 220
Schilddrüse	0, 210	0, 290	0, 280	0, 240
		0, 360	0, 360	0, 330
Gehirn	0, 100	0, 100	0, 100	0, 100
		0, 080	0, 090	0, 090
Muskel	0, 130	0, 100	0, 050	0, 030
		0, 120	0, 075	0, 055
Rest des Tieres	0, 250	0, 160	0, 080	0, 100
		0, 130	0, 160	0, 100
Fell	0, 180	0, 180	0, 180	0, 160
		0, 110	0, 090	0, 090
Blut	0, 120	0, 110	0, 220	0, 270
		0, 125	0, 120	0, 170
Serum	0, 150	0, 190	0, 400	0, 470
		0, 200	0, 200	0, 300
Erythrozyten	0, 090	0, 060	0, 080	0, 100
		0, 100	0, 060	0, 065
Urin	0, 000	(0, 800)	(1, 300)	(1, 600)
Werte beim LPC-1 Tumor:				
Tumor		0, 400	0, 370	0, 350
Blut	0, 020	0, 110	0, 160	0, 200
Serum		0, 120	0, 200	0, 240
Ascites	0, 700	0, 330	0, 140	0, 100
Ascitesserum		0, 330	0, 140	0, 100

12 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	4 Tagen	7 Tagen
0, 230	0, 180	0, 185	0, 130	0, 105
0, 315	0, 210	0, 200	0, 090	0, 065
0, 290	0, 200	0, 120	0, 070	0, 047
0, 355	0, 340	0, 330	0, 220	0, 125
0, 370	0, 340	0, 330	0, 250	0, 220
0, 830	0, 600	0, 590	0, 440	0, 370
0, 500	0, 490	0, 390	0, 230	0, 140
0, 235	0, 250	0, 270	0, 190	0, 155
0, 370	0, 330	0, 290	0, 200	0, 150
0, 320	0, 300	0, 300	0, 120	0, 090
0, 240	0, 210	0, 150	0, 100	0, 080
0, 180	0, 080	0, 080	0, 060	0, 036
0, 140	0, 130	0, 055	0, 040	0, 040
0, 110	0, 140	0, 160	0, 210	0, 130
0, 070	0, 080	0, 090	0, 085	0, 080
0, 100	0, 100	0, 080	0, 080	0, 073
0, 110	0, 120	0, 100	0, 090	0, 075
0, 210	0, 220	0, 220	0, 140	0, 080
0, 130	0, 135	0, 115	0, 080	0, 040
0, 180	0, 180	0, 160	0, 110	0, 065
0, 130	0, 130	0, 100	0, 080	0, 060
0, 330	0, 160	0, 125	0, 125	0, 096
0, 190	0, 180	0, 170	0, 140	0, 080
0, 090	0, 075	0, 075	0, 061	0, 061
0, 055	0, 070	0, 055	0, 050	0, 050
0, 030	0, 030	0, 030	0, 030	0, 030
0, 037	0, 043	0, 042	0, 040	0, 039
0, 105	0, 095	0, 070	0, 065	0, 060
0, 073	0, 072	0, 070	0, 060	0, 045
0, 130	0, 115	0, 100	0, 080	0, 070
0, 065	0, 056	0, 050	0, 040	0, 025
0, 150	0, 140	0, 130	0, 080	0, 056
0, 120	0, 080	0, 075	0, 048	0, 054
0, 260	0, 260	0, 190	0, 120	0, 080
0, 220	0, 135	0, 115	0, 051	0, 049
0, 080	0, 060	0, 070	0, 055	0, 050
0, 040	0, 040	0, 046	0, 047	0, 061
(1, 400)	(0, 450)	(0, 200)	(0, 150)	(0, 100)
0, 350	0, 350	0, 300	0, 280	0, 200
0, 170	0, 150	0, 150	0, 150	0, 110
0, 180	0, 160	0, 150	0, 150	0, 120
0, 110	0, 150	0, 150	0, 140	0, 120
0, 080	0, 140	0, 140	0, 140	0, 130

Pankreas:

Es zeigt bis zur ersten Stunde eine sehr starke Anreicherung von Selenomethionin. Von allen genannten Organen besitzt es überhaupt die höchste spezifische Aktivität. Sie liegt selbst 2 - 3 mal höher als die der Niere. Diese hohe Aktivität ist Ausdruck der starken Bildungsrate von Verdauungsfermenten. Da es ein sezernierendes Organ ist, fällt seine Aktivität früh wieder ab; siehe auch HANSSON 1963. Bei Plasmozytomtieren ist die Anreicherung des Pankreas nur halb so stark und zeitlich etwas verzögert.

Wie Tabelle 1 darstellt, zeigt das Pankreas bei Tumortieren eine Gewichtsabnahme. Da man vorwiegend an einen Fettgewebsschwund denken muß, ist die geringere spezifische Aktivität des Pankreas bei Tumortieren um so auffallender, als jetzt eigentlich das hohe Anreicherungsvermögen seines spezifischen Gewebes mehr zum Tragen kommen sollte.

Wie bei allen Organen, so wurden auch beim Pankreas die Werte der spezifischen Aktivität durch eine zweite Untersuchungsserie kontrolliert. Hierbei fiel auf, daß die Werte des Pankreas zwischen der 6. und 24. Stunde stärker voneinander variierten. Diese Erscheinung war auch bei der Schilddrüse und beim Thymus zu bemerken. Sie erklärt sich aus dem unterschiedlichen Funktionszustand der Organe.

Leber:

Sie zeigt ebenfalls eine frühe und starke Aufnahme von Selenomethionin. Wohl durch Abgabe von markierten Proteinen findet schon nach 30 Minuten wieder ein Aktivitätsabfall statt, der die ersten 12 Stunden stark beschleunigt ist. Die etwas erhöhten Werte der spezifischen Aktivität der Leber von Plasmozytomtieren stehen in Parallele zu ihrer leichten Gewichtszunahme, wie sie Tabelle 1 darstellt. Es ist also eine geringe Stoffwechselintensivierung feststellbar. Auffallend ist auch, daß der Abfall der spezifischen Aktivität der Leber bei Plasmozytommäusen über den 4. Tag beschleunigt weiter geht.

Niere:

Sie zeigt einen langsameren Aktivitätsanstieg, doch liegt ihre spezifische Aktivität für die weiteren Tage weit über den Werten der anderen Organe. Die stärkere Anreicherung durch die Niere einer Tumormaus ist unter anderem dadurch zu erklären, daß diese Niere fettärmer ist und sich eine gleiche Aktivität auf ein geringeres Gewicht verteilt. (S. auch Tabelle 1)

Urin:

Wie die Ergebnisse auf S. 14 zeigten, geht über 90 % des Selenomethioninschwundes der Maus über die Nieren und wird im Urin ausgeschieden. Der Wert der spezifischen Aktivität des Urins liegt am ersten Tag weit über dem der Niere selbst. Lag eine stärkere Nierenschädigung mit Proteinurie vor, konnte eine Trichloressigsäurefällung im Urin größere Mengen Eiweiß darstellen. Bei dieser Proteinurie war zum Teil 15 % des ausgeschiedenen Selenomethionins an das gefällte Eiweiß gebunden.

Milz:

Wie schon der Gewichtsvergleich in Tabelle 1 erwies, ist die Milz der Tumormaus stark vergrößert. Diese starke Veränderung tritt ebenso in dem Aktivitätsverlauf zutage. Die Milz des Tumortieres ist wesentlich stoffwechselaktiver, und ihre Werte der spezifischen Aktivität sind in den ersten Stunden gegenüber gesunden Tieren nahezu verdoppelt.

PC-5 Tumor:

Die spezifische Aktivität des Tumors liegt unter den Werten der großen Stoffwechselorgane, doch ist sein Anreicherungsvermögen im Vergleich zum Restkörper der Maus mehr als doppelt so stark. Die Werte seiner spezifischen Aktivität sind gegenüber Muskelgewebe sogar 8 mal größer und gegenüber Hirngewebe zweimal größer; gegenüber der Lunge sind seine Werte nicht erhöht. Das Anreicherungsmaximum des Tumors liegt ebenfalls im 6-Stundenbereich, doch fällt seine spezifische Aktivität im Gegensatz zu den großen Stoffwechselorganen weniger schnell ab.

Serum:

5 Minuten nach der intravenösen Selenomethioningabe ist keine erhöhte

Aktivität mehr im Serum vorhanden. Nur eine Probe nach 1 Minute ergibt noch einen erhöhten Aktivitätswert. Das injizierte Selenomethionin wird also schnell von den Gewebs- und Organzellen aufgenommen, obwohl es sich, wie später gezeigt wird (Tabelle 4), noch keinesfalls um einen festen Einbau handelt. Schon nach 30 Minuten findet im Serum wieder ein Aktivitätsanstieg statt und im zunehmenden Maße treten markierte Serumproteine auf. Das Maximum der Markierung liegt im 6-Stundenbereich. Die Werte der Plasmozytomtiere sind oft doppelt so groß wie die der gesunden Mäuse. Dieses verstärkte Auftreten von markierten Serumproteinen weist auf ihre beschleunigte Synthese in der Tumormaus hin. Auf nähere Einzelheiten wird in einem späteren Kapitel eingegangen.

LPC-1 Tumor:

Beim LPC-1 Tumor beschränkten sich die Beobachtungen auf den Tumor, den Ascites und das Blut. Diesen Tumortieren wurde das Selenomethionin in die Peritonealhöhle gegeben, um dem dort wachsenden Tumor die Möglichkeit zu bieten, bevorzugt Selenomethionin anzureichern. Die abnehmenden Aktivitätswerte des Aszites zeigen das langsame Eindiffundieren des Selenomethionins in die Blutbahn. Es tritt damit für die übrigen Körperorgane eine Verzögerung in dem Selenomethioninangebot von einigen Stunden auf. Im ganzen zeigen die Werte der spezifischen Aktivität des LPC-1 Serums ein niedrigeres Maximum und einen langsameren Abfall. Man muß hier berücksichtigen, daß die LPC-1 Tumormaus unter stärksten Blutverlusten in die Bauchhöhle hinein leidet und das durch die resultierende Anämie ihr Stoffwechsel verlangsamt ist. Im Endstadium ließen sich aus dem Herzen einer solchen Maus nicht mehr als 2 Tropfen Blut gewinnen, wohingegen bei gesunden Tieren das 10fache zu erhalten war.

Aktivitätsanteile der einzelnen Organe an der Gesamtkörperaktivität

Die Werte der spezifischen Aktivitäten sind ein Maß für die Eiweißsyntheserate in 1 Gramm Organgewebe; sie geben aber noch keinen Aufschluß über die Beteiligung des ganzen Organes am Eiweißstoffwechsel der Maus. Hierbei muß die spezifische Aktivität mit dem Organgewicht multipliziert werden. Das Ergebnis zeigt Tabelle 3.

Sie gibt die Gesamtaktivität von Organen an,

und zwar als Promillewerte der Gesamtaktivität, die der Maus gegeben wurde. Aus dieser Tabelle ist ebenso der Aktivitätsanteil zu ersehen, der bis zu dem jeweiligen Zeitpunkt ausgeschieden wurde.

Tabelle 3

Aktivitätsverteilungen zu verschiedenen Zeiten in den Organen von PC-5 Tumormäusen im Vergleich zu gesunden Tieren (gegeben wurde 1 micro-Ci auf 5 g Mausgewicht). Die Werte der einzelnen Organe sind in Promille der verabreichten Gesamtdosis angegeben. Die Werte der gesunden Tiere stehen unter den Werten der Tumormäuse.

Werte nach:	30 min	1 Std	6 Std	12 Std	24 Std	48 Std	4 Tage	7 Tage
PC-5 Tumor	220	270	280	270	200	210	160	140
Darm	100	120	120	120	90	80	40	24
	180	230	220	170	120	70	40	25
Leber	180	180	140	90	90	90	80	40
	200	170	140	120	95	90	70	50
Niere	25	40	55	45	35	35	30	20
	45	50	55	40	40	30	20	15
Pankreas	13	23	8	3	4	4	3	3
	60	60	20	14	12	9	7	5
Milz	15	30	30	22	20	20	8	5
	4	4	4	4	3	2	1	1
Magen	20	20	25	10	6	6	4	2
	25	20	20	12	10	4	3	3
Hoden	4	4	4	4	5	6	7	4
	4	4	5	3	4	4	4	4
Herz	3	2	2	2	2	1	1	1
	5	4	4	2	2	2	1	1
Lunge	6	6	7	6	6	6	4	2
	6	6	6	4	4	3	2	1
Schilddrüse	5	5	5	5	3	2	2	1
	10	10	7	5	5	4	3	2
Gehirn	8	8	8	7	6	6	5	5
	7	7	7	4	5	4	4	4
Rest des Tieres	280	140	180	190	180	130	120	90
	350	360	270	200	200	200	170	120
Fell	100	100	90	80	65	60	50	40
	70	50	50	40	35	30	25	15
Blut	30	60	70	40	40	35	20	18
	33	33	49	32	23	20	15	18
ausgeschieden	0	0	0	100	230	310	470	590
	0	0	140	350	440	520	630	740

Vergleicht man die Werte der Organe von gesunden Tieren mit denen der Tumormäuse, so ist der Unterschied bei der Milz am auffälligsten. Dieses Organ enthält bei der Tumormaus entsprechend seiner schon gezeigten Gewichtszunahme und seiner intensiveren Selenomethioninanreicherung das 10-fache an Aktivität gegenüber der Milz von gesunden Tieren. Das Pankreas verhält sich umgekehrt; hier ist bei Tumormäusen nur ein Drittel der Aktivität von gesunden Tieren vorhanden. Die Werte der gesunden Tiere und der Tumormäuse in der Tabelle 3 sind im übrigen nur sehr bedingt miteinander vergleichbar , da bei Tumortieren der Tumor selbst schon fast 30 % der gegebenen Aktivität aufnimmt und damit die Werte der übrigen Organe im Vergleich zu den Organwerten der gesunden Tiere stark erniedrigt sind.

Bildet man die Differenzen zwischen den 6-Stundenwerten und den 7-Tagewerten bei den Organen der Tumormäuse, so errechnet sich, daß der Tumor 50 % seiner Aktivität verliert, während die Milz 83 % abgibt, der Darm 80 %, die Leber 72 % und die Niere 64 %. Nur die Aktivitätsmenge der Hoden nimmt zu. Der Restkörper gibt ebenfalls 50 % seiner Aktivität ab und das Blut 75 % (beim Blut wurde in jeder Maus eine einheitliche Menge von 1, 5 ml angenommen, da eine quantitative Entblutung schwer möglich ist).

Um noch einen genaueren Einblick in die Stoffwechselintensitäten der einzelnen Organe zu erhalten, wurde in den ersten Stunden nach der Selenomethioningabe nicht nur die Gesamtaktivität des betreffenden Organgewebes bestimmt, sondern auch der jeweilige Anteil des freien und des eingebauten Selenomethionins bestimmt. Der im Eiweiß eingebaute Anteil des aktiven Methionins wurde durch Homogenisieren des Organs mit anschließender Trichloressigsäurefällung ermittelt (siehe Methoden Seite 10). Aus den Ergebnissen, die Tabelle 4 wiedergibt, geht hervor, daß nach 6 Stunden praktisch alles Selenomethionin in gebundener Form vorliegt und die gemessenen Werte der Gesamtaktivität dem eingebauten Selenomethionin entsprechen. Der 30-Minutenwert liegt nur beim Pankreas über 70 % festgebundenem Selenomethionin. Bei über 60 % liegen

die Werte von Lunge und Schilddrüse; bei 50 % Leber, Tumor, Niere und Serum. Zwischen 20 - 30 % liegen Hirn, Muskel und die Erythrozyten.

Tabelle 4

Anteil des eingebauten Selenomethionins an der Gesamtaktivität in den einzelnen Organen zu verschiedenen Zeiten nach der intravenösen Selenomethioningabe. (Durchschnittswerte von zwei PC-5 Tumormäusen) Die Zeitwerte entsprechen der Tötungszeit der Maus; die Organe wurden im Durchschnitt erst 10 Minuten danach homogenisiert.

Werte nach:	5 Minuten	30 Minuten	60 Minuten	6 Stunden
Pankreas	54 %	76 %	86 %	88 %
Lunge	65 %	67 %	72 %	88 %
Leber	45 %	57 %	72 %	90 %
Schilddrüse	44 %	61 %	72 %	83 %
Milz	42 %	62 %	81 %	92 %
Tumor	35 %	57 %	76 %	86 %
Niere	35 %	50 %	60 %	90 %
Serum	23 %	50 %	70 %	95 %
Erythrozyten	16 %	25 %	68 %	92 %
Hoden	15 %	38 %	66 %	88 %
Herz	12 %	30 %	68 %	86 %
Hirn	11 %	30 %	60 %	87 %
Muskel	10 %	24 %	55 %	80 %

5. Elektrophoretische Bestimmungen der Serum- und Asciteseiweißfraktionen

Von besonderem Interesse ist bei Plasmozytomen das Verhalten der Pro-

teinfraktionen im Serum und gegebenenfalls auch im Aszites, falls der Tumor dort wächst. Die Untersuchungen wurden mit Hilfe der Papierelektrophorese durchgeführt. Die folgenden Bilder geben die vorgefundenen Verhältnisse wieder.

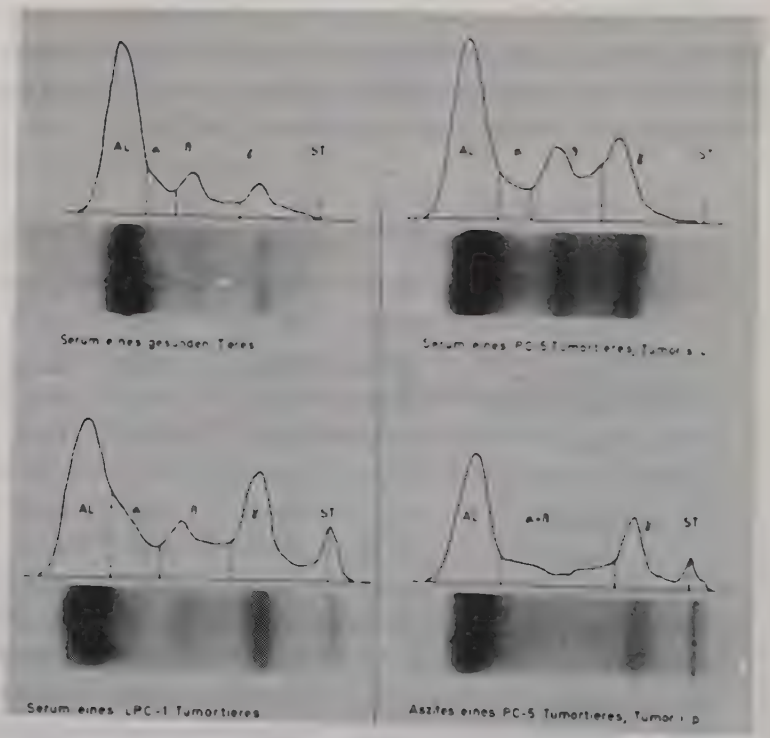


Abb. 4, 5, 6 und 7

Eiweißelektrophoresen bei gesunden Tieren und Tumormäusen

Die aus den Abbildungen 4 - 7 ersichtlichen qualitativen Veränderungen der Serumfraktionen bei Tumortieren seien anschließend durch quantitative Angaben ergänzt (Tabelle 5, 6 und 7).

Tabelle 5

Relative Mengenangaben der einzelnen Serumfraktionen in Prozenten (Mittelwerte von 12 Mäusen ± Standardabweichung:

	Gesunde Mäuse	PC-5 Tumormäuse	LPC-1 Tumormäuse
Albumine	49 ± 4,5	38 ± 3,1	37 ± 4,0
Alpha Glob.	10 ± 0,7	10 ± 2,3	11 ± 1,5
Beta 1 Glob.	13 ± 1,2	17 ± 1,9	9 ± 1,7
Beta 2 Glob.	6 ± 0,9	8 ± 2,7	6 ± 1,7
Gamma 1 Gl.	17 ± 4,3	24 ± 2,4	17 ± 1,5
Gamma 2 Gl.	5 ± 1,2	3 ± 0,9	2 ± 0,7
Start	-	-	18 ± 4,1

Bei den berücksichtigten PC-5 Tumormäusen wuchs der Tumor jedesmal subcutan; wächst der Tumor intraperitoneal, dann finden sich kaum Unterschiede in den Serumfraktionen, verglichen mit gesunden Tieren. Beim LPC-1 Tumor treten die Veränderungen der Serumfraktionen sowohl beim subcutanen als auch beim intraperitonealen Wachstum auf.

Tabelle 6

Da parallel zu den Serumfraktionen auch der Gesamteiweißgehalt des Serums bestimmt wurde, lassen sich auch die Werte der absoluten Mengenangaben errechnen (Angaben der Proteinfraktionen in Gramm pro 100 ml Serum):

	Gesunde Mäuse	PC-5 Tumormäuse	LPC-1 Tumormäuse
Albumine	2,01 ± 0,22	1,73 ± 0,17	1,67 ± 0,15
Alpha Glob.	0,44 ± 0,03	0,45 ± 0,14	0,48 ± 0,05
Beta 1 Glob.	0,53 ± 0,07	0,78 ± 0,11	0,42 ± 0,12
Beta 2 Glob.	0,23 ± 0,04	0,35 ± 0,11	0,28 ± 0,12
Gamma 1 Gl.	0,71 ± 0,20	1,05 ± 0,15	0,80 ± 0,15
Gamma 2 Gl.	0,22 ± 0,06	0,12 ± 0,04	0,11 ± 0,03
Start	-	-	0,82 ± 0,21
Gesamteiweiß	4,1 ± 0,26	4,5 ± 0,40	4,6 ± 0,66

Tabelle 7

Wuchs der Tumor intraperitoneal, dann ergaben sich für die Eiweißfraktionen des entstehenden Aszites folgende relative Mengenangaben; die Werte sind in Prozenten angegeben (Mittelwerte von 8 Mäusen ± Standardabweichung):

	Gesunde Mäuse	PC-5 Tumormäuse	LPC-1 Tumormäuse
Albumine	63 ± 4,5	50 ± 4,1	41 ± 3,8
Alpha + Beta	17 ± 4,1	20 ± 3,3	20 ± 4,4
Gamma	12 ± 1,9	23 ± 2,5	21 ± 2,8
Start	8 ± 3,2	7 ± 3,5	18 ± 5,0

Die Werte der gesunden Tiere wurden gefunden, indem die geringen Mengen an peritonealer Flüssigkeit, die normalerweise nur vorhanden sind, mit etwas physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen wurden und in dieser Verdünnung auf die Elektrophoresestreifen aufgetragen wurden.

Das Serumeiweiß beim PC-5 Tumortier

Aus Tabelle 6 ersieht man folgende Veränderungen: der subcutan wachsende Tumor zeigt im Elektrophoresebild eine Verminderung des Albumins und eine Erhöhung sowohl im Beta- und Gammabereich. Diese Befunde werden auch von anderen Autoren beschrieben (DALTON, HAYES, KORST, ROSENOER). Die Zunahme der Beta-1- und Gamma1-Globulinmenge und die Abnahme der Albumine konnte auch durch den t-Test bei einer Signifikanzwahrscheinlichkeit von 95 % gesichert werden.

Die Gesamtproteinmenge pro 100 ml Serum ist ebenfalls signifikant erhöht. Diese Zunahme der Gesamtproteinmenge ist fast immer bei Plasmazelltumoren anzutreffen.

Wächst der Tumor intraperitoneal, so zeigen sich im Serum kaum Veränderungen, während der Ascites die Veränderungen zeigt, die bei subcutanem Wachstum des Tumors im Serum auftreten. Die Albumine sind also vermindert und die Globuline vermehrt (Tabelle 7).

Trennt man elektrophoretisch den Urin einer PC-5 Maus auf, so finden sich Proteine, die eine größere Beweglichkeit haben als die Albumine. Ihnen kommt aber keine pathogenetische Bedeutung zu, denn sie finden sich ebenso bei gesunden Tieren (FAHEY 1959). Bei 5 Tumormäusen wurde der Urin auf Bence-Jones-Eiweißkörper untersucht, doch die Proben fielen negativ aus.

Das Serumeiweiß beim LPC-1 Tumortier

Das Serum dieser Tumormäuse zeigt eine signifikante Abnahme der Albuminmenge und ebenso eine signifikante Abnahme der Beta-1-Globuline. Die geringe Zunahme der Gamma-1-Globuline konnte mit dem t-Test bei einer Signifikanzwahrscheinlichkeit von 95 % durch die vorliegenden Meßwerte statistisch nicht gesichert werden. Das Serum enthält außerdem 18 % an Proteinen, die sich während der Elektrophorese nicht bewegen und am Start liegenbleiben. Möglicherweise handelt es sich um Zelleiweiße, die von den zerfallenden Erythrozyten aus dem stark blutigen Aszites stammen und in die Blutbahn gelangten.

Ein Unterschied in den Serumfraktionen, je nachdem ob der Tumor subcutan oder intraperitoneal wächst, fand sich beim LPC-1 Tumor nicht. Ein eigentlich freies Wachstum von Tumorzellen im Ascites wie beim PC-5 Tumor liegt auch nicht vor. Er siedelt sich nur unter Bildung eines blutigen Ascites in geweblicher Verbindung längst des Darmes an, wie auf Seite 11 beschrieben wurde.

6. Umsatz der mit Selenomethionin markierten Proteinfraktionen

Die durch die Papierelektrophorese ermittelten Werte der Serumproteinfraktionen können keine Aussage darüber machen, wie schnell die einzelnen Fraktionen im Organismus umgesetzt werden. Eine vergrößerte Eiweißmenge auf dem Elektrophoresepapier besagt nicht, daß dieses Protein vermehrt gebildet wird; es kann auch ein verminderter Abbau zugrunde liegen. Um die Bildungsgeschwindigkeit darzustellen, wurde der Einbau von Selenomethionin in die Serumeiweißfraktionen untersucht und die Ergebnisse sind in den Abbildungen 8, 9, 10 und 11 wiedergegeben. Die Abbildungen zeigen, daß die Aktivitätsverteilung in den Fraktionen ein völlig anderes Bild ergibt, als die vorhandenen Eiweißmengen vermuten lassen.

Die Untersuchungen des Selenomethionineinbaus in die Serumproteine bei PC-5 Tumormäusen wurden in gleicher Weise auch bei gesunden Tieren und LPC-1 Tumormäusen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 12, 13, 14 und 15 zusammenfassend dargestellt. (Die Tabellen zu diesen Abbildungen sind im Anhang des Buches wiedergegeben; die Werte beruhen jeweils auf Doppelbestimmungen.) Da die LPC-1 Tumortiere ein vermindertes Blutvolumen aufweisen - vergleiche Seite 24 -, mußte bei ihnen auf eine intravenöse Gabe verzichtet werden und Selenomethionin wurde intraperitoneal gegeben. Durch diese intraperitoneale Gabe sind die Werte des Selenomethionineinbaus in die Serumproteine beim LPC-1 Tumortier besonders in den ersten Stunden nicht mit den Werten der anderen Tiere zu vergleichen. Das Maximum des Selenomethionineinbaus liegt bei LPC-1 Tumortieren später.

Albumine:

Obwohl die Albumine den Hauptanteil der Serumproteine darstellen, ist ihre Umsatzrate niedriger als bei den Globulinen. Das Maximum der Selenomethioninmarkierung liegt bei gesunden Tieren und bei PC-5 Tumormäusen im 6-Stundenbereich, und zu diesem Zeitpunkt ist das

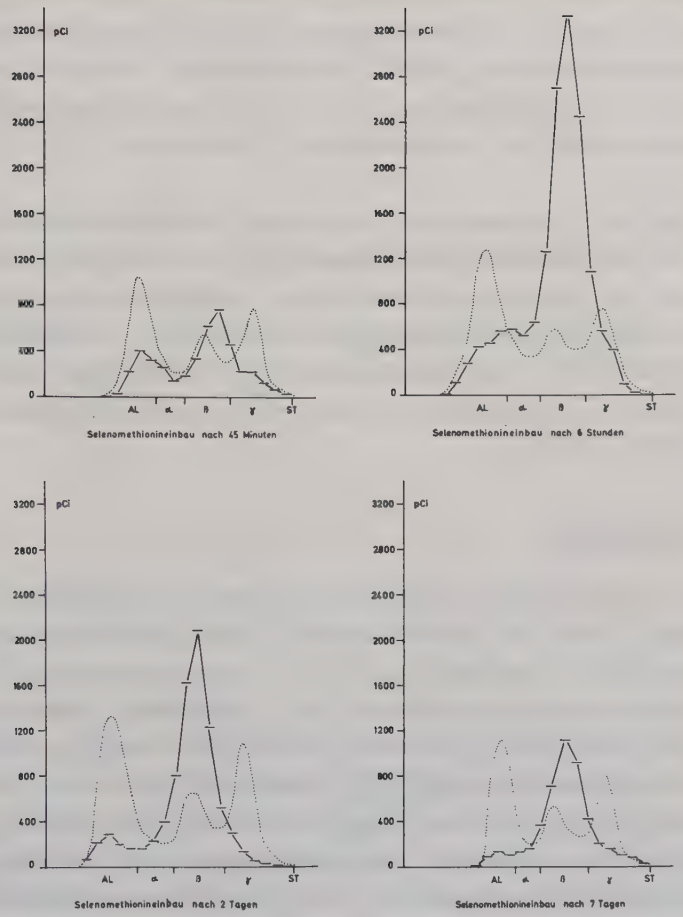


Abb. 8, 9, 10 und 11

Selenomethionineinbau in das Serumeiweiß von PC-5 Tumormäusen. Die durch die Elektrophorese aufgetrennten Eiweißfraktionen sind gepunktet wiedergegeben, die in 0,5 cm breiten Teilstreifen gemessenen Aktivitäten sind durch die mit Linien verbundenen Querstriche dargestellt.

Albumin im PC-5 Tumorserum doppelt so stark markiert wie bei gesunden Tieren. Es ist also anzunehmen, daß die reduzierte Albuminmenge im Tumorserum - wie es Tabelle 6 darlegt - nicht auf einer verminderten Albuminbildung beruht, sondern im Gegenteil eine erhöhte Synthese vorliegt und ein beschleunigter Umsatz besteht.

Bei den LPC-1 Serumproteinen ist der Aktivitätseinbau durch das langsamere Eindiffundieren des Selenomethionins in die Blutbahn etwas verzögert. Wie die Werte auf Seite 16 zeigen, verliert eine LPC-1 Tumormaus täglich viel weniger Aktivität als gesunde Tiere, so daß durch die stärkere Reutilisierung der Aktivitätsabfall in den Proteinen verlangsamt ist. Dieses macht sich auch bei den anderen Eiweißfraktionen des Serums bemerkbar.

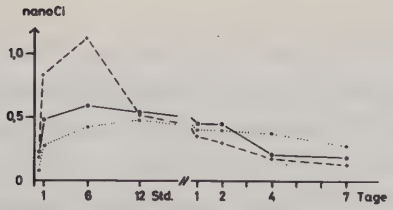
Alpha-Globuline:

Die einfachen Mengenwerte der Papierelektrophorese in Tabelle 5 und 6 zeigen, daß bei den Alpha-Globulinen im Serum von PC-5 Tumormäusen und von gesunden Tieren kaum ein Unterschied besteht. Dieses bestätigt auch der Aktivitätseinbau, wie er in Abbildung 13 dargestellt ist. Die Selenomethioninmarkierung ist bei beiden Tiergruppen gleich. Die Aktivitätsmarkierung der Alpha-Globuline im LPC-1 Serum ist dagegen verringert. Es kann jedoch nicht endgültig gesagt werden, ob hier eine Verminderung der Bildungsrate vorliegt, denn das Selenomethionin stand den Organen der LPC-1 Tumormaus nur verzögert zur Verfügung, da es intraperitoneal gegeben wurde.

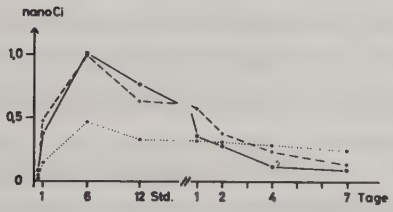
Beta-Globuline:

Im Betabereich des Serums findet sich ein sehr starker Aktivitätseinbau, wie er auch von PENNER 1964 beim Menschen beschrieben worden ist. Um die Aktivitätsmengen wiedergeben zu können, wurde Abb. 14 in einem anderen Maßstab gezeichnet als Abb. 12, 13 und 15.

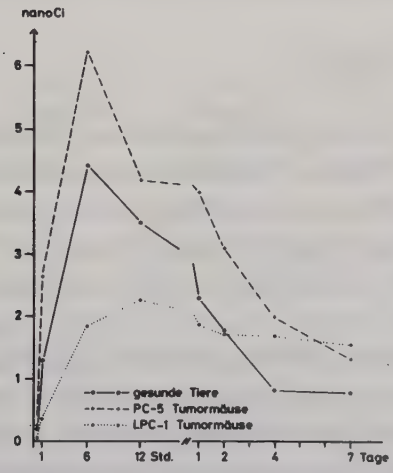
im Albuminbereich



im Alphabereich



im Betabereich



im Gammabereich

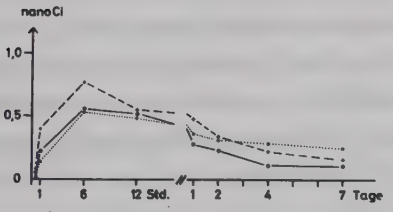


Abb. 12, 13, 14 und 15

Eingebaute Selenomethioninmengen in den einzelnen Fraktionen von 1 mg Serumeiweiß zu verschiedenen Zeiten nach der intravenösen Selenomethioningabe bei gesunden Tieren und Tumormäusen.

Tabelle 6 gibt bei gesunden Tieren eine Beta-Globulinmenge von 0, 76 g pro 100 ml Serum an und für die PC-5 Tumormäuse 1, 13 g. Diese erhöhte Beta-Globulinmenge beim PC-5 Tumortier resultiert aus ihrer erhöhten Bildungsrate, wie Abbildung 14 zeigt. Leider bietet das Verfahren, die Aktivität der Serumeiweißfraktionen durch 0, 5 cm breite Unterteilungen des Elektrophoresestreifens zu messen, nicht die Möglichkeit, die Radioaktivität von einzelnen Unterfraktionen zu bestimmen und so das vermehrt gebildete Betaglobulin genau zu lokalisieren.

Beim LPC-1 Tumor fällt die Markierung der Betaglobuline wegen des verzögerten Selenomethioninangebotes entsprechend geringer aus.

Gamma-Globuline:

Das LPC-1 Serum weist eine auffallend erhöhte Markierung auf, wenn man das verzögerte Selenomethioninangebot berücksichtigt. Der geringen Gamma-Globulinerhöhung im PC-5 Serum von 0, 34 Gramm pro 100 ml Serum (Tabelle 6) entspricht ebenfalls eine gering erhöhte Selenomethioninmarkierung, wie Abbildung 15 zeigt.

Mitunter war bei gesunden Tieren im elektrophoretisch aufgetrennten Serum ebenfalls eine Gammaglobulinvermehrung anzutreffen. Diese Veränderung konnte durch eine verstärkte Immunglobulinbildung erklärt werden, denn besonders bei Inzuchtmäusen sind Infektionen vor allem im Respirationstrakt häufig, wie es auch POTTER bei seinen Untersuchungen fand. Inwieweit die Gammaglobulinvermehrung bei den Tumormäusen, die sicher noch in erhöhtem Maße für Infektionen anfällig sind, auf Immunglobulinen beruht, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht werden.

Quantitative Vergleiche

Die Abbildungen 12 - 15 zeigen Unterschiede im Selenomethionineinbau bei gesunden Tieren und den Tumormäusen, und die qualitativen Veränderungen wurden soeben besprochen. Errechnet man jedoch die eingebauten Selenomethioninmengen pro Gewichtseinheit der einzelnen Proteinfraktionen, so lassen sich die Tiergruppen auch quantitativ vergleichen. Die errechneten Werte stehen in Tabelle 8. Die Angaben des eingebauten Selenomethionins beziehen sich auf 1 mg des genannten Proteins, und es liegt für die eingebaute Selenomethioninmenge - gemessen in picoCurie - der 6-Stundenzeitpunkt zugrunde.

Tabelle 8

	1 mg Albumin	1 mg Alpha-Gl.	1 mg Beta-Gl.	1 mg Gamma-Gl.
Gesund	1200 pCi	9500 pCi	22300 pCi	2700 pCi
PC-5 Tumor	3300 pCi	10200 pCi	24000 pCi	2900 pCi

Betrachtet man nur die Werte der gesunden Tiere und setzt die eingebaute Selenomethioninmenge in 1mg Albumin gleich 1, so findet man, daß die Alphaglobuline 8 mal, die Betaglobuline 18 mal und die Gammaglobuline 2 mal so stark markiert wurden.

Vergleicht man die Werte der gesunden Tiere mit den Werten der Tumortiere, so findet man bei den Globulinen keine Veränderungen. Sie wurden in der Zeiteinheit gleich stark markiert, und dies besagt, daß bei PC-5 Tumortieren die Globulinsynthese nicht beschleunigt ist. Die bei diesen Tumortieren erhöhten Globulinmengen im Serum unterliegen keinem beschleunigten Umsatz. Im Albuminbereich findet sich jedoch ein auffallender Unterschied. Bei diesen Proteinen zeigt Tabelle 8 einen fast dreifach so starken Selenomethionineinbau. Es liegt also bei den Albuminen in einer PC-5 Tumormaus ein um den Faktor 3 vermehrter Umsatz vor.

7. In vitro Untersuchungen an Tumorzellen

Die übliche Papierelektrophorese vermittelt ein Bild der momentanen Mengenverhältnisse der Serumproteine, während der Einbau des radioaktiven Selenomethionins in die Serumproteine ihre Bildungsgeschwindigkeit aufzeigt. Beide Verfahren sagen aber nicht aus, in welchem Organ diese Proteine gebildet wurden. Da es nicht möglich ist, im Organismus nur einem Organ allein Selenomethionin als markierende Substanz zuzuführen, bietet sich zur Beantwortung dieser Frage die Möglichkeit an, Organzellen außerhalb des Organismus zu beobachten.

Es wurden deshalb PC-5 Tumorzellen in der "Aszitesform", die eine Suspension von Plasmazellen ohne jeden geweblichen Kontakt darstellt, inkubiert. (siehe Methoden Seite 9). Das Ergebnis dieser Inkubation zeigt Abbildung 16 und überraschenderweise finden sich selenomethioninmarkierte Proteine in erheblicher Menge im Albuminbereich.

Es mußte im folgenden geprüft werden, ob es sich bei dem an das Eiweiß gebundenen Selenomethionin um einen echten, metabolischen Einbau handelt, oder ob sich das Selenomethionin durch eine unspezifische Adsorbtion nur lose angelagert hatte. Es wurde darum reines Aszitesserum, aus dem durch Zentrifugieren die Tumorzellen entfernt worden waren, in gleicher Weise unter Inkubationsbedingungen mit Selenomethionin und Nährzusatz bebrütet. Es zeigte sich, daß die Selenomethioninmarkierung des Albumins, die jetzt nur eine einfache Anlagerung sein konnte, geringer ausfiel und nur etwa 1/4 des Wertes wie bei der Inkubation mit Zellen betrug. (Abb. 17).

Anschließend hieran wurde versucht, die im zellfreien Milieu erfolgende Anlagerung von Selenomethionin an Albumin vor dem Auftragen des Serums auf das Elektrophoresepapier zu lösen. Es erwies sich aber, daß selbst eine tagelange, bei Bewegung ausgeführte Dialyse das Selenomethionin nicht aus der Bindung an Albumin befreien konnte. Versuche mit einer reinen Humanalbuminlösung, die ebenfalls mit Selenomethionin inkubiert worden war, ergaben den gleichen Befund. Da die Dialyse die spon-

tane Anlagerung nicht aufhebt, wurden ständig Leeransätze ohne Tumorzellen bei den jeweiligen Zellinkubationen zur Erhaltung eines Kontrollwertes mitbebrütet. - Das Bindungsvermögen von Proteinen für Selenomethionin soll auf Selen-Schwefelbrücken beruhen, wie AWAAD vermutet. -

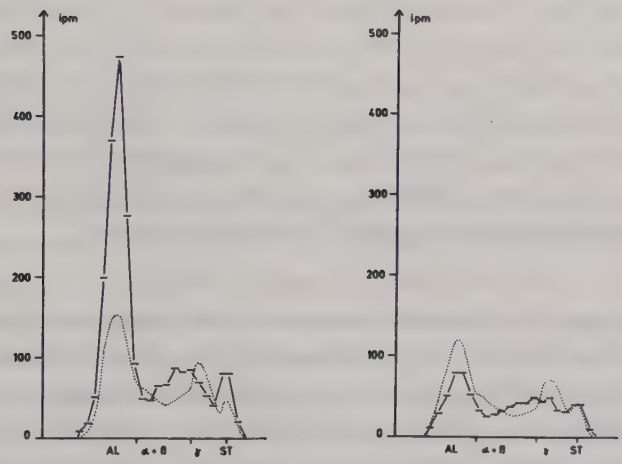


Abb. 16 (links)

Aktivitätsmengen in den Proteinfraktionen von Aszitesserum, in dem PC-5 Tumorzellen mit Nährsubstrat und Selenomethionin inkubiert wurden. Die durch die Elektrophorese aufgetrennten Eiweißfraktionen sind gepunktet wiedergegeben, die in 0, 5 cm breiten Teilstreifen gemessenen Aktivitäten sind durch die mit Linien verbundenen Querstriche dargestellt.

Abb. 17 (rechts)

Aktivitätsmengen in den Proteinfraktionen des gleichen Aszites, der ebenfalls mit Nährsubstrat und Selenomethionin, aber ohne Zellen, inkubiert wurde. Die elektrophoretisch getrennten Eiweißmengen in Abbildung 16 und 17 betrugen je 2 mg. (ipm = Impulse pro Minute).

Zum besseren Verständnis der soeben beschriebenen Inkubationsversuchs seien zusätzlich auch die genauen Werte der Ansätze genannt. Es waren in 1 Gramm Inkubationsansatz 20 mg PC-5 Tumorzellen und 980 mg Ansatzmedium, das aus 2/3 Aszitesserum und 1/3 Nährlösung bestand. In diesen Ansatz wurde 9 Gamma (= 4 microCi) Selenomethionin gegeben. Nach der Inkubation von 2 1/2 Stunden fand sich in 1 mg Eiweiß des Ansatzmediums nach Abzentrifugieren der Zellen eine Selenomethioninmenge von 31 ng, wobei 65 % (= 20 ng) im Albuminbereich gefunden wurde. Beim Leerversuch ohne Tumorzellen nur mit Ansatzmedium und ebenfalls 9 Gamma Selenomethionin war nur 12 ng Selenomethionin an 1 mg Eiweiß gebunden, wobei 40 % (etwa gleich 5 ng) im Albuminbereich vorlag. Es war also in der Inkubationszeit von den Tumorzellen nicht 31 ng Selenomethionin durch echten Einbau an 1 mg Eiweiß gebunden, sondern nur 19 ng, wobei 15 ng zur Albuminsynthese verwendet wurden. - Vergleichende Inkubationen mit anderen Aktivitäten und geänderten Zusammensetzungen zeigten ähnliche Ergebnisse. -

An das Ergebnis, daß 15 ng Selenomethionin in der Inkubationszeit zur Albuminsynthese verwandt wurde, läßt sich noch eine weitere Überlegung anschließen. Da Methionin zu etwa 1,3 % am Albuminaufbau beteiligt ist (RAUEN; Band 2, Seite 345), errechnet sich, daß 15 ng Selenomethionin etwa 1 Gamma Albumin entsprechen. Da im ganzen Überstand des Inkubationsansatzes (er enthielt 0,6 % Eiweiß) nicht 1 mg Eiweiß, sondern 6 mg Eiweiß waren, kommen wir zu der Folgerung, daß 20 mg Tumorzellen des Ansatzes rund 6 Gamma Albumin in der Inkubationszeit gebildet hatten. Da in einer Maus etwa 4 g Tumorzellen sind, würden diese in 2 1/2 h 1,2 mg Albumin bilden. (Zum Vergleich: im Blutgefäßsystem einer Maus - etwa 1 ml Serum - sind im ganzen 20 mg Albumin)

Bei dem echten, metabolischen Einbau des Selenomethionins in die Albu-

mine während der Zellinkubation mußte weiterhin untersucht werden, ob dieser Vorgang spezifisch für die Plasmazellen war, oder ob auch andere Suspensionen von Zellen diesen Effekt zeigen. Es wurden daher Ehrlich-Aszitestumorzellen mit Selenomethionin und Nährzusatz in gleicher Weise bebrütet. Es zeigte sich aber, daß die Proteinfraktionen des Ansatzserums nach der Bebrütung keine höheren Aktivitätsmengen aufwiesen als die Kontrollwerte des Leeransatzes. Es findet also offenbar kein Aktivitätseinbau in Albumine oder andere Proteine statt.

Um den Befund der Albuminsynthese durch die PC-5 Tumorzellen weiter zu sichern, wurden PC-5 Tumorzellen vorsichtig vom Aszitesserum abzentrifugiert (bei 1000 Upm). Nach mehrmaligem Spülen mit Nährlösung wurden sie in einem eiweißfreien und damit albuminfreien Milieu inkubiert. Die sehr geringen Eiweißmengen, die nach einer 2-stündigen Inkubation in der Inkubationsflüssigkeit vorhanden waren, wurden mit einem inaktiven Trägerserum elektrophoretisch getrennt. Es fand sich wiederum eine Aktivitätsmarkierung im Albuminbereich, wie Abbildung 18 zeigt. Am Start blieb allerdings eine größere Menge an selenomethioninmarkierten Proteinen liegen, so daß an eine Zerstörung einiger Tumorzellen durch diese Inkubationsart gedacht werden muß. Die Tumorzellen selbst wurden nach der Inkubation homogenisiert und das Zellhomogenat elektrophoretisch aufgetrennt. Obwohl Zellhomogenate sich nur schlecht elektrophoretisch trennen lassen (KESSEL), ist doch neben den am Start liegenbleibenden Zellproteinen eine Aktivitätsmarkierung in den voranwandernden Proteinen zur Darstellung gekommen, die als intrazelluläre Albumine anzusehen sind. (Abbildung 19)

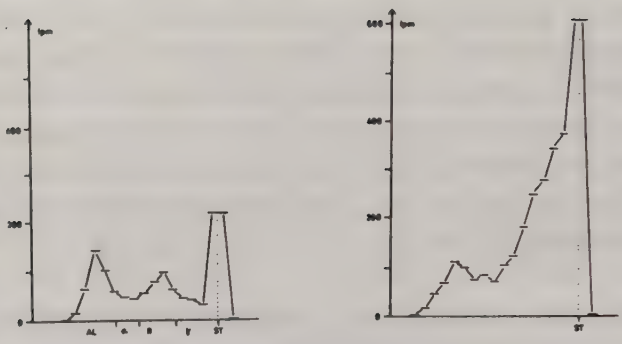


Abb. 18 (links)
Aktivitätsmengen in den elektrophoretisch aufgetrennten Proteinen, die von PC-5 Tumorzellen in eiweißfreiem Inkubationsmedium gebildet wurden. Die Aktivität wurde in 0,5 cm breiten Teilstreifen des Elektrophoresepapiers gemessen.

Abb. 19 (rechts)
Aktivitätsverteilung im elektrophoretisch aufgetrennten Zellhomogenat von den unter Abbildung 18 genannten Tumorzellen.

Da sich bei der Inkubation von PC-5 Tumorzellen herausgestellt hat, daß diese Plasmazellen Proteine im Albuminbereich synthetisieren, lag es nahe, ein blutleer gespültes Gewebestück dieses Tumors zu homogenisieren und danach elektrophoretisch aufzutrennen, um es mit einem in gleicher Weise aufgearbeiteten Lebergewebsstück zu vergleichen. Die Leber, die als der normale Bildungsort für Albumine angesehen wird, (WUHRMANN), zeigte in ihrem elektrophoretisch aufgetrennten Homogenat ein Albuminband, das 4,5 % des Lebereiweißes ausmachte. Aber auch beim Eiweiß des PC-5 Tumorhomogenates zeigte sich, daß 4,5 % dem Albuminband angehört. Ein blutleergespültes Muskelgewebsstück, das vergleichsweise homogenisiert und dann elektrophoretisch aufgetrennt wurde, zeigte nur ein ganz geringes Albuminband, das nicht mehr meßbar unter 1 % der aufgetragenen Eiweißmenge lag.

F. Diskussion der Ergebnisse

Zu Beginn der vorliegenden Arbeit wurde der Frage nachgegangen, inwieweit Selenomethionin als radioaktive Aminosäure die untersuchten Plasmazelltumoren markiert und sie bei szintigraphischen Messungen über dem Körper der Maus zur Darstellung bringt. Die Szintigraphien auf Seite 17 + 18 zeigen, daß der PC-5 Plasmazelltumor erst einige Tage nach der Selenomethioninjektion stärker als andere Organe hervortritt und damit szintigraphisch nachweisbar wird. Beim Plasmozytom des Menschen fand OEFF dagegen schon nach wenigen Stunden eine zur szintigraphischen Darstellung genügend starke Selenomethioninanreicherung. Die Bedeutung des Selenomethionins in der Lokalisationsdiagnostik von Plasmazelltumoren wird sicher auch davon abhängen, in welchem Maße der Tumor Paraproteine synthetisiert.

Da die szintigraphischen Untersuchungen keine exakten Aussagen über die Eiweißkinetik von einzelnen Organen zulassen, wurde die Selenomethioninverteilung in Tumormäusen genauer untersucht. Tabelle 2 zeigt das Ergebnis, und es ist ersichtlich, daß der Wert der spezifischen Aktivität von Tumorgewebe tatsächlich unter den Werten anderer Organe, z. B. von Pankreas, Leber, Milz, Niere oder dem Darm liegt. Der Tumor bildet sich in den Szintigraphien weniger wegen seines Anreicherungsvermögens ab, als vielmehr wegen seiner räumlichen Größe. Erst nach einigen Tagen tritt der Tumor szintigraphisch stärker hervor, weil sein Gewebe die einmal aufgenommene Aktivität weniger schnell abgibt, als die zu Anfang stärker markierten Gewebe anderer Organe.

Nachdem gezeigt worden war, daß Tumorgewebe Selenomethionin nicht besonders stark anreichert, wurde der Frage nachgegangen, inwieweit andere Organe in einer Tumormaus in ihrem Eiweißstoffwechsel beeinflußt sind. Ebenfalls in Tabelle 2 sind auch die Werte der spezifischen Aktivitäten von den Organen gesunder Tiere genannt, und man erkennt, daß zum Teil erhebliche Unterschiede zu den Werten der Tumortiere bestehen. So sind bei Tumormäusen z. B. die Werte der spezifischen

Aktivitäten von Pankreas, Magen und Darm erniedrigt und dies zeigt, daß der Eiweißstoffwechsel besonders der Organe, die Verdauungsfermente bilden, bei Tumortieren reduziert ist. Als weiterer Unterschied zu gesunden Tieren fällt auf, daß bei Tumortieren die spezifische Aktivität des Blutserums zweifach erhöht ist. Es ist also bei diesen Tieren die Bildungsrate der Serumproteine verdoppelt. Dieser Befund steht in guter Parallele zu der Stoffwechselintensivierung derjenigen Organe, die Serumproteine bilden. So ist bei Tumortieren der Eiweißstoffwechsel der Leber erhöht, und der Stoffwechsel der Milz sogar zehnfach vermehrt.

Bei den Untersuchungen über die genaue Eiweißkinetik der Serumproteine wurde zuerst einmal die elektrophoretische Trennung der einzelnen Serumfraktionen vorgenommen. Unerwarteterweise zeigte sich hier, wie Tabelle 5 und 6 darlegen, daß die untersuchten Plasmazelltumore keine größeren Mengen an Paraproteinen im Serum aufweisen, obwohl in einem großen Teil der durchgesehenen Literatur typische "Paraproteinzacken" bei den Plasmozytomen der Mäuse zur Darstellung gelangten. Dieser Befund, daß keine größeren Mengen an Paraproteinen im Serum gefunden wurden, stand allerdings im Gegensatz zu dem erhöhten Wert der spezifischen Aktivität des Serums bei Tumortieren, der darauf hinwies, daß Serumproteine vermehrt gebildet wurden. Es wurde darum untersucht, inwieweit die Umsatzgeschwindigkeiten der einzelnen Serumfraktionen geändert waren.

Grundsätzlich kann man die Umsatzgeschwindigkeit von Serumproteinen auf zweierlei Art darstellen. Man bestimmt entweder die Abbaugeschwindigkeit der Serumproteine z.B. durch die Zeit, in der markierte Eiweißkörper, die ins Gefäßsystem injiziert wurden, aus dem Serum verschwinden, oder man bestimmt die Bildungsgeschwindigkeit z.B. durch die Zeit, die eine markierende Substanz braucht, um in den einzelnen Serumfraktionen zu erscheinen. Die Bestimmung der Bildungsgeschwindigkeit bietet den Vorteil, daß der Organismus die Proteine selbst markiert und sich diese von den unmarkierten nicht unterscheiden, sofern es die markierende Substanz zuläßt. Dies trifft aber beim Selenomethionin zu

(HANSSON, 1963; HOLLAND). Beiden Wegen wird bei der quantitativen Beurteilung der Umsatzgeschwindigkeit jedoch die Reutilisation zum Nachteil, das heißt, die Halbwertzeiten von Proteinen fallen länger aus, als sie in Wirklichkeit sind. Vor allem N^{15} markierte Aminosäuren würden durch die Aktivität der Transaminasen ein erheblich verzerrtes Bild zeigen und eine lange Halbwertzeit vortäuschen. C^{14} markierte Verbindungen verhalten sich günstiger, da der Organismus Kohlenstoff schnell ausscheidet (MC FARLANE). Selenomethionin dürfte ebenfalls ungünstiger liegen, zumal bei einer Tumormaus eine anabole Eiweißstoffwechsellage vorliegt und ein höherer Reutilisierungsgrad wahrscheinlich ist. Diesem Nachteil des Selenomethionins steht aber der Vorteil seiner intensiven Gammastrahlung entgegen.

Die Bildungsrate der Serumproteine wurde in der vorliegenden Arbeit durch den Einbau von Selenomethionin in die einzelnen Serumeiweißfraktionen dargestellt. Beim Vergleich der Werte zwischen Tumormäusen und gesunden Tieren muß aber berücksichtigt werden, daß die Mäuse dieser beiden Gruppen ein unterschiedliches Gewicht aufweisen und demzufolge eine unterschiedliche Gesamtdosis an Selenomethionin erhielten, nämlich 0, 200 microCi pro 1 g Mausgewicht. Da aber - wie Tabelle 2 zeigt - das spezifische Gewicht des Tumors bei 0, 200 microCi 1 g liegt, ist etwa sichergestellt, daß die Restorgane einer Tumormaus einen gleichen Selenomethioninspiegel zur Verfügung haben wie die Organe einer gesunden Maus. So problematisch es immer sein wird, zwei verschieden im Eiweißstoffwechsel stehende Tiere zu vergleichen, so lassen doch die gefundenen Werte qualitative Schlüsse im gewünschten Umfange zu.

Die Werte der Einbaugeschwindigkeit von Selenomethionin in die Serumfraktionen von gesunden Tieren und Tumormäusen zeigen die Abbildungen 12, 13, 14 und 15. Das Maximum der Markierung liegt im 6-Stundenbereich, ein Befund, der auch von MAURER bei Kaninchen und von PENNER beim Menschen beschrieben wird. Der starke Abfall der Aktivität in den Proteinfraktionen nach dieser Zeit wird darauf zurückgeführt, daß die

markierten Proteine des Serums in den extravasalen Raum abwandern (WUHRMANN, Seite 135). Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die Geschwindigkeit mit der die Eiweißkörper in das Interstitium gelangen bei den Proteinen der einzelnen Serumfraktionen unterschiedlich ist (OEFF 1959); besonders die Albumine weisen einen schnelleren Austausch zwischen intravasalem und extravasalem Raum auf als die anderen Serumproteine. Hieraus ergibt sich, daß die Werte der Tabelle 8, die die Mengen des eingebauten Selenomethionins in die einzelnen Serumfraktionen zur 6. Stunde nach der Selenomethioningabe angeben, nur bedingt vergleichbar sind; denn z. B. haben die markierten Albumine zu dieser Zeit schon in einem höheren Grade die Blutbahn wieder verlassen als die anderen Serumproteine. Die Werte der Albuminmarkierung fallen also im Serum, verglichen zu den Globulinen, relativ geringer aus.

Die Frage nach der unterschiedlichen Abwanderungsgeschwindigkeit von markierten Proteinen aus der Blutbahn ist aber nicht nur bei Vergleichen zwischen den einzelnen Serumfraktionen zu stellen, sondern sie ist auch bei Vergleichen von gesunden Tieren und Tumormäusen zu berücksichtigen. So ist z. B. der Wert der Albuminmarkierung nach Tabelle 8 bei einer PC-5 Tumormaus dreifach erhöht, doch setzt man bei dieser Aussage voraus, daß die markierten Albumine bei Tumormäusen und gesunden Tieren gleich schnell aus dem Gefäßsystem ins Interstitium gelangen. HUMPHREY jedoch vermutet, daß die Albumine in einer Plasmozytommaus beschleunigt in den extravasalen Raum abwandern und er führt darauf die bei Paraproteinämien fast immer anzutreffende Abnahme der Albumine zurück. Auch bei der PC-5 Tumormaus findet man eine Abnahme der Albuminmenge im Serum und es dürfte ebenfalls ein beschleunigtes Abwandern der Albumine aus dem Gefäßsystem bei diesen Tieren vorliegen. Der Wert der Selenomethioninmarkierung der Albumine, wie er in Tabelle 8 angegeben ist, dürfte also bei PC-5 Tumormäusen gegenüber gesunden Tieren noch höher sein, wenn bei gleichen Abwanderungsgeschwindigkeiten verglichen wird. - Das beschleunigte Abwandern der Albumine ins Interstitium bei PC-5 Tumormäusen kann auch aus einem anderen Befund angenom-

men werden. Wie Tabelle 7 zeigt, befindet sich im Aszites einer PC-5 Tumormaus eine relative Verminderung der Albumine, obwohl der Aszites als eine reine Suspension von Tumorzellen anzusehen ist, die, wie die Inkubationsversuche zeigten, Proteine im Albuminbereich synthetisieren. Der Befund, daß trotzdem eine relative Albuminabnahme im Aszites auftritt, kann ebenfalls als ein beschleunigtes Abwandern der Albumine aus dem Peritonealraum angesehen werden.
Bei den PC-5 Tumortieren zeigen die Abbildungen 12 bis 15 eine vermehrte Selenomethioninmarkierung von Serumproteinen im Albumin-, Beta- und Gammabereich. Nehme man an, daß diese vermehrt markierten Serumproteine vom Tumor gebildet werden, dann müßte der PC-5 Tumor Albumine, Beta- und Gammaglobuline synthetisieren. Mit dieser Aussage läßt man aber unberücksichtigt, daß die anderen serumproteinbildenden Organe bei einer Tumormaus eine geänderte Stoffwechsellage aufweisen. Besonders die Milz ist bei einer PC-5 Tumormaus in ihrem Gewicht verfünffacht und zeigt eine nahezu doppelt so starke Selenomethioninanreicherung pro Gramm Organgewicht als sie bei gesunden Tieren zur Beobachtung kommt. Eine Veränderung des Serumproteinbildes bei einer Tumormaus kann also durchaus auf der geänderten Stoffwechsellage der Milz beruhen. Die Leber einer Tumormaus verhält sich demgegenüber unauffälliger. Ihr Anreicherungsvermögen für Selenomethionin und ihr Organgewicht sind nur gering erhöht. Dieser Befund ist auffallend, da die Leber als der alleinige Bildungsort für Albumine gilt (WUHRMANN), und gerade die Albumine die am stärksten erhöhte Syntheserate in der PC-5 Tumormaus aufweisen. Der Befund der nur gering erhöhten Stoffwechselintensität der Leber stützt das Ergebnis der Inkubationsversuche, daß die PC-5 Tumorzellen selbst Proteine im Albuminband bilden.

Nachdem durch die elektrophoretischen Untersuchungen und durch den Selenomethionineinbau die genauen Unterschiede in den Serumproteinen von Tumormäusen und gesunden Tieren abgeklärt worden waren, wurde untersucht, welche Veränderungen der Serumproteinmenge durch den intensiveren Stoffwechsel der proteinbildenden Organe bewirkt wurden und welche Veränderungen durch den Tumor selbst entstanden. Hierbei zeigten

in vitro-Untersuchungen an PC-5 Tumorzellen, daß diese Zellen überraschenderweise Albumine bilden und nur geringe Mengen an Beta-2-Globulinen synthetisieren. Obwohl das Plasmozytom nach dem Bild der Serumelektrophorese dem Beta-1- und Gamma-1-globulintyp angehört, werden von den Tumorzellen diese Globuline nicht synthetisiert.

Paraproteine haben eine zum Teil längere, aber auch zum Teil kürzere Halbwertzeit, als die ihnen entsprechenden Normalproteine, wie OEFF und auch PENNER am Menschen zeigten. Die Abbildungen 12 bis 15 zeigen, wie die Selenomethioninaktivität in den Serumeiweißfraktionen nach dem Maximum von Tag zu Tag langsam wieder abfällt. Aus diesem Abklingen der Aktivität kann man die Halbwertzeiten der einzelnen Serumproteinfraktionen errechnen. Doch da, wie auf Seite 45 deutlich wurde, die Tumormäuse einen höheren Reutilisierungsgrad aufweisen als gesunde Tiere, lassen sich diese beiden Tiergruppen nicht über mehrere Tage vergleichen. Die Frage, ob der Tumor Paraproteine oder echte Albumine bildet, konnte über eine Halbwertzeitbestimmung nicht näher beantwortet werden.

Der Befund, daß ein Plasmozytom Proteine im Albuminbereich synthetisiert, ist in der durchgesehenen Literatur noch nicht beobachtet worden. Dieses kann darauf beruhen, daß die zahlreichen Untersuchungen über Plasmazelltumore nur die Serumeiweißmengen der Papierelektrophorese zugrundelegen, die auch bei dem PC-5 Tumor keine Albuminsynthese vermuten lassen, da die Albumine im Serum sogar vermindert sind.

G. Zusammenfassung

Der Plamazelltumor PC-5 reichert Selenomethionin erheblich an, doch wird seine spezifische Aktivität von einigen Organen zum Teil um ein Vielfaches überboten, vor allem von Pankreas, Leber, Niere, Milz und Darm. Erst nach Tagen hebt sich das Tumorgebiet szintigraphisch deutlich vom Körper ab.

Die Untersuchungen ergaben bei der PC-5 Tumormaus eine Vergrößerung und starke Eiweißstoffwechselintensivierung der Milz, während der Eiweißstoffwechsel der Leber nur gering erhöht war. Beim Pankreas war das Anreicherungsvermögen für Selenomethionin auf die Hälfte reduziert.

Die Beobachtungen des Selenomethionineinbaus in die Serumproteine erwiesen bei gesunden Tieren, daß die Betaglobuline 17 mal stärker markiert wurden als die Albumine, während sich bei den Gammaglobulinen nur eine doppelt so starke Aktivitätsmenge pro Gewichtseinheit fand. Bei den PC-5 Tumormäusen wurde gegenüber gesunden Tieren im Serum eine erhöhte Markierung der Albumine und der Beta- und Gammaglobuline gefunden. Bei den Albuminen lag sogar eine fast dreifach so starke Markierung vor, obwohl ihre Menge im Serum vermindert war. Aus Elektrophoresen ergab sich, daß das Plasmozytom nach den Serumeiweißmengen geurteilt dem Beta-1- und Gamma-1-Globulintyp entsprach.

In vitro Untersuchungen an PC-5 Tumorzellen mit Selenomethionin ergaben eine hohe Syntheseleistung dieser Zellen von Proteinen im Albuminbereich. Es hat also den Anschein, daß nicht nur die Leber, sondern auch Plasmazellen Albumine synthetisieren.

H. Anhang 1: Rechenbeispiele

(A) Beispiel zu Tabelle 2

1 g Leber hat 6 Stunden nach der i.v. Injektion von 1 microCi Selenomethionin pro 5 g Mausgewicht eine Aktivität von 0,510 microCi.

Gang der Rechnung:
Die Selenomethioninprobe hatte am 15.9. eine spezifische Aktivität von 640 microCi/ml; am Tag der Injektion, am 17.10. waren es 535 microCi/ml.

$$\left(A_t = A_o \cdot e^{\frac{-0,693 \times t}{T_{1/2}}} \right)$$

Die Tumormaus erhielt, wie nachgemessen wurde 4,9 microCi i.v. Die Maus wog 27,5 g. Da 1 microCi auf 5 g Mausgewicht gegeben werden sollte, wäre die zu gebende Menge 5,5 microCi gewesen; die Maus erhielt also 0,6 microCi zu wenig, die Meßwerte fallen um den Faktor 1,12 zu klein aus (5,5 : 4,9 = 1,12). War die Aktivität z.B. o,450 microCi pro Gramm, so ist der richtige Wert gleich 0,450 x 1,12 = 0,510.

(B) Beispiel zu Tabelle 8

1 mg Albumin einer PC-5 Maus enthält 6 Stunden nach einer intravenösen Selenomethioningabe gleich 3300 pCi.

Gang der Rechnung:
Die Maus erhielt eine Selenomethioninmenge wie in Beispiel A angegeben. Im Serum lagen - durch Biuret-Messung bestimmt - 4 g % Eiweiß vor; wurde also auf einem Elektrophoresestreifen 0,05 ml Serum aufgetragen, so entsprach das einer Eiweißmenge von 2,0 mg. Die photometrische Messung des Elektrophoresestreifens ergab einen Mengenanteil des Albumins von 36 %. In 2 mg Eiweiß sind also 0,72 mg Albumin. Nach dem Herausschneiden des Albuminbandes aus dem Elektrophoresestreifen wurde eine Aktivität des Albumins von 2400 picoCi gemessen. 1 mg Albumin hat damit eine Aktivität von 3300 picoCi.

Anhang 2: Tabelle zu den Abbildungen 12, 13, 14 und 15

Selenomethionineinbau in 1 mg Serumeiweiß zu verschiedenen Zeiten.
Angaben der Aktivität in den jeweiligen Proteinfraktionen in picoCi

Gesunde Tiere	Albumin	Alfa	Beta	Gamma	Start	Summe
30 Minuten	230	90	200	60		580
1 Stunde	480	380	1300	220	20	2400
6 Stunden	590	1040	4230	560	100	6520
12 Stunden	540	770	3510	520	90	5430
24 Stunden	450	360	2150	280	80	3320
48 Stunden	450	280	1790	230	50	2800
4 Tage	210	120	830	110	30	1300
7 Tage	190	100	780	110	20	1200
PC-5 Tumortiere						
30 Minuten	190	50	200	60		500
1 Stunde	835	480	2640	400	40	4395
6 Stunden	1120	1020	6230	770	150	9290
12 Stunden	520	640	4200	550	90	6000
24 Stunden	350	580	4020	480	100	5530
48 Stunden	300	380	3100	340	80	4200
4 Tage	190	240	2000	220	50	2700
7 Tage	130	140	1330	160	40	1800
LPC-1 Tumortiere						
30 Minuten	70	35	60	30	10	205
1 Stunde	270	150	360	140	40	960
6 Stunden	420	470	1840	540	320	3600
12 Stunden	490	320	2260	490	530	4090
24 Stunden	400	330	1880	360	330	3300
48 Stunden	400	310	1770	340	280	3100
4 Tage	380	290	1730	290	200	2890
7 Tage	280	250	1570	250	150	2500

I. Literatur

ANGHILERI, L.J.; MARGUES, R.:
Fate of injected Se^{75}-Methionine and Se^{75}-Cystine in mice.
Arch. Biochem. Biophys. 111 (1965) 580 - 582

ASKONAS, B.A.; FAHEY, J.L.:
Enzymatically produced subunits of proteins formed by plasma cells in mice.
II. Beta-2-Alpha Myeloma protein and Bence Jones protein
J. Exp. Med. 115 (1962) 641 - 653

AWWAD, H.K.; POTCHEN, E.J.; ADELSTEIN, S.J.; DEALY, J.B.:
The regional distribution of Se^{75}-Methionine in the rat.
Metab. Clin. Exp. 15 (1966) 370 - 378

BERGSAGEL, D.E.:
Evaluation of new chemotherapeutic agents in the treatment of multiple myeloma
Cancer Chemotherapy Rep. 21 (1962) 69 - 112

BICHEL, J.:
A transplantable plasma cell leukemia in mice; preliminary report
Acta Pathol. Microbiol. Scand. 29 (1951) 464 - 467

BRECHER, G.; TANAKA, Y.; MALMGREN, R.A.; FAHEY, J.L.:
Morphology and Protein synthesis in multiple Myeloma and macroglobulinemia.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 113 (1964) 642 - 653

COLEMAN, R.F.; LUPTON, C.H.; MAC MANUS, J.F.A.:
Renal lesions in inbred mice with plasma cell tumours.
Arch. Pathol. 74 (1962) 6 - 15

DALTON, A.J.; POTTER, M.; MERWIN, R.M.:
Some ultrastructural characteristics of a series of primary and transplanted plasma cell tumors of the mouse.
J. Nat. Cancer Inst. 26 (1961) 1221 - 1267

DOCUMENTA GEIGY
Statistik
Basel (1962) 146 - 171

DUNN, T.B.:
Normal and pathologic anatomy of the reticular tissue in laboratory mice, with a classification and discussion of neoplasms.
J. Nat. Cancer Inst. 14 (1954) 1281 - 1430

DUNN, T.B.:
Plasma cell neoplasma beginning in the ileocecal area in strain C3H mice.
J. Nat. Cancer Inst. 19 (1957) 371 - 391

FAHEY, J.L.; POTTER, M.:
Bence Jones proteinuria associated with a transplantable mouse plasma cell neoplasm.
Nature 184 (1959) 654 - 655

FAHEY, J.L.:
Immunochemical studies of twenty mouse myeloma proteins; evidence for two groups of proteins similar to gamma and beta2A globulins in man.
J. Exp. Med. 144 (1961) 385 - 398

FAHEY, J.L.:
Studies of gamma and beta2A Globulins
Comparison of immunochemical properties of S and F (Papain) fragments of Myeloma proteins from inbred mice.
J. Immunol. 90 (1963) 576 - 583

FAHEY, J.L.; WUNDERLICH, J.; MISHELL, R.:
The Immunoglobulins of mice
I. Four major classes of Immunoglobulins:
7S gamma2, 7S gamma1, gamma 1A (beta2A), and
18S gamma 1M globulins
J. Exp. Med. 120 (1964) 223 - 242

HANSSON, E.; BLAU, M.:
Incorporation of Se^{75}-Selenomethionine into pancreatic
juice proteins in vivo.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 13 (1963) 71 - 74

HANSSON, E.; JACOBSSON, S.:
Uptake of Se^{75}-Selenomethionine in the tissues of mouse
studied by whole-body Autoradiography,
Biochem. Biophys. Acta 115 (1966) 285 - 293

HAYES, D.M.; SPURR, C.L.; HINES, J.D.:
Correlative studies of the chemotherapy of mouse and
human plasmacytomas.
Cancer Chemotherapy Rep. 24 (1962) 1 - 6

HERRMANN, G.:
Etudes morphologique et immuno-électrophorétique des
tumeurs plasmocytaires induites chez la Souris.
Compt. Rend. 257 (1963) 4071 - 4074

HOLLAND, J.F.; FIELD, S.; BRYANT, B.; BLAU, M.:
Exponential loss of isotopically-labeled Total Body Protein.
Clin. Res. 13 (1965) 324

HOWATSON, A.F.; Mc CULLOCH, E.A.:
Virus-like bodies in a transplantable mouse plasma cell tumor.
Nature 181 (1958) 1213 - 1214

HUMPHREY, J.H.; FAHEY, J.L.:
The metabolism of normal plasma proteins and gamma-Myeloma protein in mice bearing plasma cell tumors.
J. Clin. Invest. 40 (1961) 1696 - 1705

KESSEL, M.:
Untersuchungen zur Identifizierung elektrophoretisch getrennter Organ-Protein-Fraktionen.
in: Protides of the Biological Fluids
Proc. VI. Coll. Bruges 1958
Elsevier Publishing Company, Amsterdam 108 - 112

KOBAYASHI, H.; POTTER, M.; DUNN, T.B.:
Bone lesions produced by transplanted plasma cell tumor in Balb/c mice.
J. Nat. Cancer Inst. 28 (1962) 649 - 677

KORST, D.R.; FRENKEL, E.P.; NIXON, J.C.:
Multiple Myeloma studies of mouse plasma cell tumor and human Myeloma responsiveness to cyclophosphamide (Cytoxan).
Ann. Internal. Med. 60 (1964) 217 - 230

MAURER, W.:
Neubildungsrate einzelner Serum-Eiweiß-Fraktionen nach Gabe von S^{35}-Methionin und Transportfunktionen der Serum-Eiweiß-Fraktionen für Phosphatide und die organischen Jodverbindungen des Serums.
Arch. Exp. Pathol. Pharmakol. 218 (1953) 26 - 36

MC FARLANE, A.S.:
Turnover of labeled plasma proteins
Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss. 21 (1965) 173 - 184

MC INTIRE, K.R.; POTTER, M.:
Studies of thirty different Bence Jones protein producing plasma cell neoplasms in an inbred strain of mouse.
J. Nat. Cancer Inst. 33 (1964) 631 - 648

MERWIN, R.M.; REDMON, L.W.:
Induction of plasma cell tumors and sarcomas in mice by diffusion chambers placed in the peritoneal cavity.
J. Nat. Cancer Inst. 31 (1963) 997 - 1017

MOHR, U.; DONTENWILL, W.:
Organ- und Blutveränderungen beim KG-13-Plasmazytom des Goldhamsters.
Z. Krebsforsch. 66 (1964) 29 - 40

MOURIQUAND, C.; MOURIQUAND, J.; ALIX, D.:
Effet d l' implantion intrapéritoneale chez la souris Swiss, de chambres de diffusion contenant des fragments de tissus mammaires ou de leucémies de la souche PS.
Nouvelle Rev. Franc. Hematol. 3 (1963) 619 - 623

OEFF, K.:
Austauschkinetik der Plasmaproteine zwischen Blut und Körperhöhlen.
In: Protides of the Biological Fluids, Proc. VII, Coll. Bruges 1959, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 164 - 170

OEFF, K.; KÖRTGE, P.; HILLINGER, G.:
Der Umsatz von Paraproteinen bei Patienten mit Makroglobulinämie oder Plasmazytom.
In: Radioisotope in der Hämatologie (1. internationales Symposion Freiburg 1962). Schattauer-Verlag, Stuttgart

OEFF, K.:
Verfahren und Anwendung der Multinuklidszintigraphie
In: Radioisotope in der Lokalisationsdiagnostik.
Schattauer-Verlag, Stuttgart (1967) 85 - 90

OSSERMANN, E.F.: RIFKIND, R.A.; TAKATSUKI, K.;LAWLOR, D.P.:
Studies of morphogenesis and protein synthesis in three mouse plasma cell tumor (X5563, Adj. PC-6C, and Adj. PC-20)
Ann. N.Y. Acad. Sci. 113 (1964) 627 - 641

PENNER, J.A.:

Selenomethionine incorporation into plasma protein.
Clin. Res. 12 (1964) 277

PENNER, J.A.:

Plasma protein incorporation of Se^{75}-Methionine in multiple Myeloma.
Clin. Res. 13 (1965) 339

POTTER, M.; FAHEY, J.L.; PILGRIM, H.I.:

Abnormal serum protein and bone destruction in transmissible mouse plasma cell neoplasm .
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 94 (1957) 327 - 333

POTTER, M.; FAHEY, J.L.:

Studies on eight transplantible plasma cell neoplasm of mice.
J. Nat. Cancer Inst. 24 (1960) 1153 - 1165

POTTER, M.; MC CARDLE, R.C.:

Histology of developing plasma cell neoplasia induced by mineral oil in Balb/c mice.
J. Nat. Cancer Inst. 33 (1964) 497 - 515

RASK-NIELSEN, R.; GORMSEN, H.:

Spontaneous and induced plasma cell neoplasia in a strain of mice.
Cancer 4 (1951) 387 - 397

RASK-NIELSEN, R.; GORMSEN, H.:

On the occurrence of plasma cell leukemia in various strains of mice.
J. Nat. Cancer Inst. 16 (1956) 1137 - 1147

RAUEN, H.M.:

Biochemisches Taschenbuch
Springer Verlag, Berlin/Göttingen/Heidelberg (1964)

RIFKIND, R.A.; OSSERMANN, E.F.; HSU, G.K.; MORGAN, C.:
The intracellular distribution of gamma globulin in a mouse plasma cell tumor (X 5563) as revealed by fluorescence and electron microscopy.
J. Exp. Med. 116 (1962) 423 - 432

ROSENOER, V.M.; WHISSON, M.E.:
A transplantable plasma cell tumor in the study of carcinostatic agents.
Biochem. Pharmacol. 13 (1964) 589 - 602

TRUAX, W.E.; BRAY, J.P.; PERRY, J.E.:
A method for demonstrating probable synthesis of protein by bone marrow cells.
J. Lab. Clin. Med. 57 (1961) 54

TRUAX, W.E.; BRAY, J.P.:
Synthessis of M protein by mouse Myeloma tumor: correlation of in vitro and in vivo methods.
Blood 18 (1961) 176 - 181

VAN FURTH, R.; SCHUIT, H.R.E.; HIJMANS, W.:
The formation in vitro of paraproteins in multiple Myeloma and Waldenstroms macroglobulinemie.
Brit. J. Haematol. 12 (1966) 202 - 211

WUHRMANN, F.; MÄRKI, H.H.:
Dysproteinämien und Paraproteinämien
Verlag Schwabe & Co, Basel/Stuttgart (1963)

WUNDERLY, CH.:
Die Papierelektrophorese
Verlag Sauerländer & Co, Aarau und Frankfurt (1954)

YANCEY, S.T.:
Plasma cell neoplasm arising in a CAF mouse. Characteristics and response to certain chemotherapeutic agents.
J. Nat. Cancer Inst. 33(1964) 373 - 382

Herrn Professor Dr. med. Karl Oeff möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein Interesse an ihrer Fertigstellung herzlich danken. Die Zeit meiner Untersuchungen und die vorbildliche Zusammenarbeit in der Nuklearmedizinischen Abteilung wird mir in bester Erinnerung bleiben.

Lebenslauf

Am 8. Mai 1940 wurde ich, Walter Vollnberg, als drittes Kind des Oberregierungsrates Dr. Rudolf Vollnberg und seiner Ehefrau, Dipl. Handelslehrerin Hertha Vollnberg, geb. Kaack, in Troppau, im Sudetenland, geboren. Nach der Flucht der Familie von dort im Januar 1945 verlebte ich meine Kindheit in Kiel und besuchte hier die Volksschule bis zur 5. Klasse. 1952 wurde mein Vater nach Witten an der Ruhr versetzt,und ich bestand hier im selben Jahr die Aufnahmeprüfung ins Gymnasium, dessen mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig ich wählte. 1954 siedelten wir endgültig nach Dortmund über.

Im Frühjahr 1961 machte ich im Dortmunder Humboldt-Gymnasium mein Abitur,und im direkt anschließenden Sommersemester begann ich an der Christian-Albrechts-Universität in Kiel zu studieren. Ich wandte mich einem naturwissenschaftlichen und humanmedizinischen Studium zu und bestand im Sommersemester 1962 das Vorphysikum. Vom folgenden Wintersemester ab studierte ich an der Freien Universität Berlin und bestand hier im Winter 63/64 das Physikum. Im Winter 64/65 ging ich für ein Semester an die Universität in Innsbruck und kehrte darauf wieder an die Freie Universität zurück. Am 4. April 1968 legte ich hier mein medizinisches Staatsexamen mit dem Prädikat sehr gut ab. Mein naturwissenschaftliches Studium suchte ich neben der Humanmedizin ebenfalls zu fördern. Ich belegte eine Reihe von zoologischen, botanischen und meereskundlichen Vorlesungen und Praktika und nahm 1964 an einem mehrwöchigen Kernchemischen Isotopenkurs des Hahn-Meitner-Institutes teil.

Als Medizinalassistent arbeitete ich bisher drei Monate in der Kinderklinik Charlottenburg.

Druck: A. Wasmund - Bothmann/Höpfner, Arbeitsgemeinschaft
5 Köln-Sülz Zülpicher Straße 220, Ruf 444152
Zweigstellen: 51 Aachen Friesenstraße 13 Ruf 29516
75 Karlsruhe Waldhornstraße 19 Ruf 691452